



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE



MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE ET DE PHYSIOLOGIE CELLULAIRE

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER ACADEMIQUE EN SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

OPTION : Génie biologique

Thème

Extraction et analyse physico-chimique de deux huiles essentielles de (*Rosmarinus officinalis* et *Mentha piperata*) et leur effet conservateur sur deux produits cosmétiques : un après shampoing et une crème solaire

Présenté par

M^{lle} GUEDOUANI Amina

& M^{lle} CHOULI Naima

Soutenu : 09 / 10 / 2014

Devant le jury :

DEBIB A

MAA (UB 1)

Présidente

BENMANSOUR N

MAA (UB 1)

Examinatrice 1

ELMAHDI. I

MAA (UB 1)

Examinatrice 2 M^{me}.

BRADEA M.S

MCA (UB 1) Promotrice M^{lle}. ZERAIMI A

INGENIEUR

Laboratoires VENUS

Co-promotrice

Promotion

2013-2014

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier tout d'abord Le « Bon Dieu » tout puissant de nous avoir donnés la force, la santé, la volonté et le courage qui nous a permis de réaliser ce travail et d'arriver au terme de nos études dans des bonnes conditions.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à notre promotrice Mme BRADEA M.S qui a accepté de nous encadrer, pour ses encouragements et ses conseils scientifiques qu'elle a su nous prodiguer.

A notre Co-promotrice Mlle ZERAIMI.A qui nous a été d'un grand soutien et qui nous a apporté tout ce qui est nécessaire pour la réalisation de nos analyses dans les laboratoires de VENUS-SAPECO.

*A l'honorable jury,
Nous vous remercions d'avoir bien voulu participer à l'évaluation de ce travail. Qu'il nous soit permis d'exprimer ici notre profonde reconnaissance.*

Au Mr MOULA.K et Mlle MOULA.N, nous disons un grand merci pour nous avoir accueillis au sein de leur entreprise VENUS de Blida durant notre stage pratique.

Nous n'omettrons pas de remercier l'équipe du laboratoire de physicochimie et de microbiologie de l'entreprise VENUS pour toute l'aide apportée pendant notre stage et pour le bon accueil.

A l'ensemble des enseignants du département de Biologie de SAAD DAHLAB qui nous ont suivis tout au long du cursus universitaire.

A tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin, à la concrétisation de ce mémoire.

DEDICACE

Je dédie ce travail à...

Mes très chers parents

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez,
Vous avez toujours été présents pour les bons conseils et pour mener à bien mes études.*

A mes chères

Imène, Latifa, Melek, Nesrine, Samira et tout particulièrement Amina pour leurs encouragements et leur aide.

A mes amis

Selma, Kaouthar, Sarah, Affaf, Zahra, Sarah, Karima, Nawel, Oussama, Wail, Akram.

A toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail.

A tous ceux que j'ai omis de citer.

Naima

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail à mes très chers parents qui ont toujours été présents à mes côtés et m'ont soutenu sans relâche. Merci pour votre amour et votre confiance en moi.

A celui que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de ce projet : mon fiancé Riadh.

A mes sœurs

Amel, Sarah, Ibtissem, et Karima pour leurs encouragements et leur aide.

A mes beaux frères

Kakou, Ridha, Riad, et Islem.

A mes chers

Nissou, Moumou, Youyou, Adoula, Kimimou, Dandouna, Mouncifou, et Meryouma.

A mes beaux-parents que j'aime et ma belle-sœur Amel et ses enfants nihil et hamza

A mes amis

Sissi, Mimi, kahina, Louiza, Rym, Khadidja, Sihem, Nabila, Wahiba, et sans oublier bien sur mon amie et mon binôme Naima.

A toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail.

A tous ceux que j'ai omis de citer.

Amina

Résumé

Ce travail se propose d'extraire les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha piperata* d'une part, et d'autre part d'apprécier leur effet conservateur sur deux produits cosmétiques ; un après shampoing et une crème solaire IP60 en contrôlant la stabilité des deux huiles essentielles incorporées dans les deux produits.

Extraction des huiles essentielles à partir des feuilles séchées pendant une période d'une quinzaine de jours a été réalisée par la technique d'entraînement à la vapeur d'eau. Le rendement en huile essentielle du romarin obtenu est de 0,62% et celui de la menthe poivrée est de 1,53%.

Étude analytique des deux huiles essentielles, qui a porté sur l'analyse organoleptique (aspect, couleur et odeur) et physico-chimique (densité, indice de réfraction, indice d'acide, indice d'ester et l'indice de saponification), a révélé des résultats en accord avec ceux préconisés par les normes AFNOR.

Étude de l'activité antimicrobienne réalisée sur un ensemble de souches bactériennes a révélé que l'huile essentielle de *Mentha piperata* présente, *in vitro*, une activité bactéricide beaucoup plus importante que celle de *Rosmarinus officinalis*. En outre, les germes les plus sensibles envers l'huile essentielle de *Mentha piperata* sont : *E. coli* et *Enterococcus faecium*.

Contrôle de l'effet conservateur par l'étude de la stabilité durant une période d'un mois a été réalisé en incorporant les huiles essentielles dans les produits cosmétiques. Cette étude a été effectuée par des contrôles microbiologiques pour suivre l'efficacité des huiles essentielles en tant que conservateurs. Les résultats indiquent que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha piperata* possèdent un effet conservateur. L'huile essentielle de *Mentha piperata* confère une meilleure conservation de l'après shampoing que celle de *Rosmarinus officinalis* d'une part, et d'autre part, les deux huiles essentielles utilisées confèrent une parfaite conservation pour la crème solaire.

Mots-clés : huile essentielle, conservateur, cosmétique, activité antimicrobienne, contrôle microbiologique.

Summary

This work proposes to extract the essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Mentha piperata* first, then to appreciate their preserving effect on two cosmetic products; hair conditioner and solar cream IP 60 by the control of the stability of these oils incorporated in these products.

The extraction of the essential oils of the leaves dried during a period of fifteen days was carried out by the technique of stripping with steam. The results of the output of Rosemarie is 0,62% and the output of peppermint is 1,53%.

The analytic study of the two essential oils, which related to the organoleptic analysis (aspect, color and odor), and physico-chemical (density, index of refraction, acid value, ester index and index of saponification) has revealed results in agreement with those recommended by standards AFNOR.

The study of antimicrobial activity carried out on a whole of stocks has revealed that the essential oil of *Mentha piperata* presents, *in vitro*, a bactericidal activity much more important than the one of *Rosmarinus officinalis*. Besides, the germs which are mostly sensible to the essential oil of *Mentha piperata* are: *E. coli* and *Enterococcus faecium*.

The control of the preserving effect by studying the stability during a period of one month was carried out by incorporating the essential oils into the cosmetic products. This study was carried out by microbiological controls to follow the effectiveness of the essential oils as a conservative. The results indicate that the essential oils of *Rosmarinus officinalis* and *Mentha piperata* own a preserving effect. The essential oil of *Mentha piperata* confers a good conservation of the hair conditioner than the oil of *Rosmarinus officinalis*. On the other hand, the solar cream has been perfectly preserved by both of essential oils used for this study.

Key words: essential oil, conservative, cosmetic, antibacterial activity, microbiological controls.

ملخص

يقترح هذا العمل استخلاص الزيوت الأساسية لـ *Menthapiperata* و *Rosmarinusofficinalis* من جهة، ثم تقييم فعاليتهما المحافظة بتجربتهما على مادتي تجميل: بلسم و كريم حماية ضد أشعة الشمس IP 60 مع مراقبة استقرار هذه الزيوت بعد ادخالهما في مادتي التجميل المذكورتين سابقا.

تم استخلاص الزيوت الأساسية من الأوراق المجففة لمدة تقدر بخمسة عشر يوما لهاتين النباتين بواسطة تقنية التجريد مع البخار. نتائج المردود المتحصل عليها لنبتة اكليل الجبل كانت 0,62% أما مردود الزيت الأساسي لنبتة النعناع الحار فكان يقدر ب 1,53%.

الدراسة التحليلية للزيوت الأساسية، والتي اعتمدت على تحليل مؤثرات الحواس (الرائحة، المظهر و اللون) و الفيزيوكيميائية (الكثافة، معامل الانكسار، معامل الحموضة، معامل الأسترة و معامل التصبن). كشفت أنّ النتائج تتوافق مع المعايير المقدمة من طرف AFNOR.

دراسة النشاط ضد جرثومي التي تمت على مجموعة من الجرثومات البكتيرية كشفت أنّ الزيت الأساسي لـ *Menthapiperata* قدّم تجريبياً نشاطاً ضد بكتيري أكثر أهميّة من الذي قدمه الزيت الأساسي لـ *Rosmarinusofficinalis*؛ بالإضافة أنّ البكتيريا التي أظهرت أكثر حساسية لهذا الأخير كانت: *Enterococcusfaecium* و *coli.E*.

مراقبة الفعالية المحافظة للزيوت الأساسية بواسطة دراسة الإستقرار طوال مدة شهر تمت بإدماج هذه الزيوت مع مواد التجميل المذكورة سابقا. هذه الدراسة تم تحقيقها بالقيام بعمليات المراقبة الميكروبيولوجية بهدف متابعة فعالية الزيوت الأساسية كمادة حافظة. النتائج أظهرت أنّ كلاً من الزيت الأساسي لـ *Menthapiperata* و *Rosmarinusofficinalis* يملك العمل كمادة حافظة غير أنّ الزيت الأساسي لـ *Menthapiperata* يقدّم فعالية أكثر من التي يقدّمها الزيت الأساسي لـ *Rosmarinusofficinalis* كمادة حافظة للبلسم من جهة، و من جهة أخرى، الزيوت الأساسية المستعملة قدمت فعالية تامة كمواد حافظة لكريم الحماية ضدّ أشعة الشمس.

الكلمات المفتاحية: الزيوت الأساسية ؛ مادة حافظة؛ مادة تجميل؛ النشاط ضد جرثومي؛ المراقبة الميكروبيولوجية.

Abréviations

AFNOR : Association Française de Normalisation

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments et des produits de Santé.

ATCC: American Type Culture Collection.

CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer.

D/E : bouillon neutralisant.

E. coli : *Escherichia coli*.

GAMT : Germes Aérobie Mésophile Totaux.

HE: Huiles Essentielles.

ISO: International Organization of Standardization.

INRS : Institut National de Recherche et de Sécurité.

IP 60 : Indice de Protection.

IR : Infra-Rouge

NA : Normes Algériennes

PCA : Plat Counter Agar.

ppm : partie par million dans l'air.

SAB : Sabouraud

UFC : Unité Formant une Colonie

UV : Ultr-Violet.

Glossaire

- **Allélopathie** : ensemble des interactions biochimiques entre deux ou plusieurs plantes (autres que des micro-organismes).
- **Analgésique** : (ou antalgique) est un médicament qui prévient ou diminue la sensation de douleur. Les analgésiques les plus courants délivrés sans ordonnance sont l'aspirine, le paracétamol et l'ibuprofène.
- **Antibactérienne** : substance capable de traiter les infections provoquées par les bactéries par action bactéricide ou bactériostatique.
- **Antifongique** : substance capable de traiter les infections provoquées par les champignons microscopiques, par action fongicide ou fongistatique.
- **Antiseptique** : substance capable de prévenir la manifestation d'infections en contribuant à la destruction des microbes.
- **Antispasmodique** : médicament possédant la capacité de combattre des spasmes (crampes, convulsions...).
- **Bactériostatique** : se dit d'une substance qui freine la prolifération des bactéries sans pour autant les détruire.
- **Cellulite** : définit initialement une inflammation de tissu, quel qu'il soit, mais ce terme est principalement utilisé pour les inflammations concernant le tissu cutané.
- **Cosmétique bio** : tout produit cosmétique qui contient 100% d'ingrédients issus de l'agriculture biologique certifiés par un organisme certificateur.
- **Détoxification** : opération physico-chimique ou métabolique par laquelle un produit perd sa toxicité.
- **Dysménorrhée** : désigne des menstruations (règles) difficiles et douloureuses, survenant généralement au deuxième jour des règles, puis s'aggravant progressivement.
- **Génotoxique** : substance qui peut compromettre l'intégrité physique (cassure chromosomique ou fonctionnelle du génome).
- **Humectant** : se dit d'une substance cosmétique qui absorbe l'eau ou aide une autre substance à retenir l'humidité au niveau cutané.
- **Hypersensibilité** : est une réaction immunitaire disproportionnée par rapport à la dangerosité de l'intrus qui peut notamment être une bactérie, un virus, ou un allergène.
- **Intolérance allergique** : réaction pathologique de l'organisme à un aliment, un médicament ou à un produit particulier.

- **Isoprène** : liquide volatil incolore à odeur forte, utilisé dans la fabrication du caoutchouc synthétique.
- **Lubrification** : fait de lubrifier, d'introduire une substance grasse entre deux corps pour diminuer leur frottement.
- **Mélancolie** : est une forme de dépression sévère, la plus grave d'entre elles.
- **Monoterpénols** : ce sont des composés monoterpéniques, constitués par une molécule où une liaison C-H est remplacée par une liaison C-O-H.
- **Photo-allergie** : réaction allergique cutanée (de la peau), de type urticaire, anormale mais passagère, due aux rayons du soleil.
- **Sébum** : est le film huileux sécrété naturellement par la peau ou le cuir chevelu.
- **Sédatif** : se dit d'une substance qui agit contre la douleur, l'anxiété, l'insomnie ou qui modère l'activité d'un organe.
- **Substantive** : se dit des matières colorantes qui se fixent directement sur la fibre du tissu.
- **Tensioactif** : ou **agent de surface** est un composé qui modifie la tension superficielle entre deux surfaces.
- **Terpènes** : hydrocarbure insaturé cyclique présent dans les essences parfumées distillées à partir des végétaux.
- **Thanatologie** : étude de la mort d'un point de vue biologique ou sociologique.
- **Thermostatique** : qui sert à maintenir la température dans une enceinte entre des valeurs prescrites.
- **Tocophérol** : ou La vitamine E joue un rôle important dans la protection des globules rouges contre les substances oxydantes (les radicaux libres) et dans le ralentissement du vieillissement cellulaire. Elle protège aussi contre les maladies coronariennes (**Dictionnaire Encarta, 2009**).

Table des matières

Introduction	01
---------------------------	----

Partie I : Etude bibliographique

CHAPITRE I : Les huiles essentielles

I - 1 Généralités sur les huiles essentielles.....	02
I - 1 - 1 Historique.....	02
I - 1 - 2 Définition.....	02
I - 1 - 3 Rôle physiologique.....	02
I - 1 - 4 Méthodes d'extraction.....	02
I - 1 - 5 Composition chimique.....	04
I - 1 - 6 Propriétés et domaines d'utilisation.....	04
I - 2 Les huiles essentielles étudiées.....	05
I - 2 - 1 La menthe poivrée.....	05
I - 2 - 2 Le romarin officinal.....	07

CHAPITRE II : La physiologie de la peau et du cheveu

II - 1 La structure de la peau.....	10
II - 2 Le cuir chevelu.....	11
II - 3 Les différentes couches du cuir chevelu.....	11
II - 4 Les cheveux.....	12
II - 5Caractéristiques physicochimiques des cheveux.....	13

CHAPITRE III : Les produits cosmétiques

III - 1 Les produits de protection solaire.....	14
III - 2 L'après shampoing.....	15
III - 3 Les conservateurs en cosmétologie.....	17
III - 3 - 1 Définition.....	17
III - 3 - 2 Les conservateurs autorisés dans les préparations cosmétiques.....	18
III - 3 - 3 Les critères de choix d'un conservateur.....	18

III - 3 - 4 Exemples de conservateurs antimicrobiens.....	18
III - 3 - 4 Exemples de conservateurs antimicrobiens.....	19
A- Le parabène.....	19
B - Le formaldéhyde.....	20
Partie II : Etude expérimentale	
I - Matériels et méthodes.....	23
1 – Matériel.....	23
1 - 1 Matériel non biologique.....	23
1 - 2 Matériel biologique.....	23
2 - Méthodes	24
2 - 1 La récolte des plantes.....	24
2 - 2 Extraction des huiles essentielles.....	24
2 - 3 Détermination du rendement en huiles essentielles.....	25
2 - 4 Analyse des huiles essentielles.....	25
2 - 4 - 1 Analyse organoleptique.....	25
2 - 4 - 2 Analyse physico-chimique.....	26
2 - 4 - 3 Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	28
2 - 5 Le contrôle de l'effet conservateur des huiles essentielles sur les produits cosmétiques.....	30
2 - 5 - 1 Préparation des dilutions des huiles essentielles.....	30
2 - 5 - 2 Etude de la stabilité des huiles essentielles incorporées dans les produits cosmétiques.....	32
2 - 5 - 3 Contrôle microbiologique.....	33
II - Résultats et discussions.....	34
1 - Détermination du rendement en huile essentielle.....	34
2 - Etude analytique des huiles essentielles.....	34
2 - 1 Analyse organoleptique.....	34
2 - 2 Analyses physicochimiques.....	35
3 - Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles.....	37

4 - Le contrôle de l'effet conservateur des huiles essentielles sur les produits cosmétiques...39

4 - 1 Etude de la stabilité des huiles essentielles incorporées dans les produits cosmétiques..... 39

4 - 1 - 1 Contrôle microbiologique.....39

Conclusion.....52

Références bibliographiques

Annexe

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Menthapiperata</i>	05
Tableau II : Classification botanique de <i>Rosmarinusofficinalis</i>	08
Tableau III : La composition chimique de l'huile essentielle du romarin officinale.....	09
Tableau IV : Principaux conservateurs utilisés dans les produits cosmétiques.....	18
Tableau V : Propriétés physico-chimiques de formaldéhyde.....	21
Tableau VI : Caractéristiques des souches utilisées.....	23
Tableau VII : Incorporation des huiles essentielles dans les produits cosmétiques.....	32
Tableau VIII : Les rendements moyens en huiles essentielles des différentes plantes.....	34
Tableau IX : Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de <i>Menthapiperata</i> et <i>Rosmarinusofficinalis</i>	35
Tableau X : Résultats des analyses physicochimiques de l'huile essentielle du romarin.....	36
TableauXI : Résultats des analyses physicochimiques de l'huile essentielle de <i>Menthapiperata</i>	37
Tableau XII : Résultats de l'activité antibactérienne des huiles essentielles.....	37
Tableau XIII : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 24heures.....	40
Tableau XIV : Résultats du contrôle microbiologique sur l'après shampoing après 7 jours (J+7).....	42
Tableau XV : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur l'après shampoing après 30jours.....	44
Tableau XVI : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 24 heures.....	46
Tableau XVII : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 7 jours.....	48
Tableau XVIII : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 30 jours.....	50

Liste des figures

Figure1 : Shéma représentatif de la physiologie de la peau.....	10
Figure 2 : Les différentes couches du cuir chevelu.....	11
Figure 3 : Coupe d'une tige pilaire ; longitudinale à gauche et transversale à droite.....	13
Figure 4 : Composition chimique générale d'un après shampoing.....	16
Figure 5 : Structure chimique du parabène.....	19
Figure 6 : <i>Menthapiperata</i>	
<i>Rosmarinusofficinalis. L</i>	
Figure 7 : Schéma représentatif de la préparation des dilutions des huiles essentielles.....	31
Figure 8 : Résultats des rendements moyens en huiles essentielles des plantes.....	34
Figure8-A : Action de l'huile essentielle de (<i>Menthapiperata</i>) sur les germes testés.....	38
Figure 8-B : Action de l'huile essentielle de (<i>Rosmarinusofficinalis</i>) sur les germes testés.....	38
Figure 9 : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 24heures.....	41
Figure 10 : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 7 jours.....	43
Figure 11 : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 30 jours.....	45
Figure 12 : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 24 heures.....	47
Figure 13 : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 7 jours.....	49
Figure 14 : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 30 jours.....	51

Introduction

Introduction

Depuis l'antiquité et sur tous les continents, les plantes ont toujours tenu une place prépondérante dans l'art de guérir. Selon les cultures et les époques, elles ont été exploitées sous différentes formes, de diverses manières et pour les usages les plus variées. L'aromathérapie met en œuvre des essences et des huiles essentielles pures extraites de différentes plantes aromatiques appréciées pour leurs propriétés thérapeutiques (**Moro Buronozo, 2008**).

Les huiles essentielles, très en vogue, sont présentées comme l'excellence de ce que peut apporter le végétal en matière de soin, ce sont des substances de consistance huileuse, plus ou moins fluides, très odorantes, volatiles, souvent colorées. Elles sont extraites à partir de différentes parties de la plante souvent par distillation et entraînement à la vapeur (**Bardeau, 2009**).

Les huiles essentielles sont extrêmement anti-infectieuses, antiseptiques et antivirales, elles sont aussi antihémorragiques, antidouleurs et cicatrisantes. Mais leurs aptitudes couvrent des domaines bien plus larges, puisque elles sont utilisées dans des produits cosmétiques (**Festy, 2007**).

Face à l'inquiétude des consommateurs, de nouvelles alternatives ont commencé à être adoptés telle l'utilisation des huiles essentielles dans la conservation. Ces dernières sont des substances fortement antimicrobiennes, mais ne sont pas classées officiellement dans la liste des agents conservateurs.

Plusieurs travaux scientifiques ont permis de mieux connaître les essences et définir précisément leurs différents constituants, leurs caractéristiques physicochimiques, révélant le principe de leur action thérapeutique (**Bardeau, 1976**). Leur utilisation en médecine, en aromathérapie et en Agroalimentaire occupe aujourd'hui une place particulière (**Rota et al., 2008**).

En Algérie, quelques études ont abordé l'effet conservateur de certaines huiles essentielles extraites de nos plantes dans le domaine de la cosmétologie. C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés, dans ce travail, à l'étude de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha piperata* choisies en raison de leur activité antifongique et de leur disponibilité dans la région de Blida.

L'objectif de cette étude est d'apprécier l'effet conservateur des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha piperata* par :

- Une extraction par la technique d'entraînement à la vapeur d'eau ;
- Des analyses physicochimiques ;
- Une étude microbiologique (Aromatogramme) ;
- Une étude de stabilité des produits cosmétiques (après shampoing et crème solaire IP60) dans lesquels les conservateurs chimiques (formaldéhyde et parabène) ont été remplacés par les huiles essentielles du romarin et de la menthe poivrée à des dilutions et à des doses progressives.

Etude bibliographique

CHAPITRE 1

Les huiles essentielles

I-1 Généralités sur les huiles essentielles

I-1-1 Historique

Selon **Fabrocini (1999)**, l'aromathérapie est connue depuis la haute antiquité il y a plus de 4000 ans où on faisait déjà l'extraction des essences parfumées des plantes. Les égyptiens utilisaient ces essences aromatiques comme produits cosmétiques.

Le 15^{ème} siècle marqua le début de la diffusion des connaissances sur les plantes médicinales et sur la pratique médicale sous forme de compilations appelées herbiers.

Les traces d'utilisation d'aromathérapie retrouvées au Pakistan ont plus de 7000 ans sur terre, des inscriptions ont été trouvées datant de 4000 ans en Egypte(**Lucchesi,2005**).

Au 19^{ème} siècle, les travailleurs en parfumeries ont développé une immunité complète contre les épidémies de choléra (**Fouche et al.,2000**).

Selon**Zhiri (2006)**, les plantes produisent plus de 30.000 types de produits chimiques, y compris des principes volatils, colorants et d'autres composants, qui constituent aujourd'hui la base de traitements médicaux.

I-1-2 Définition

Huiles essentielles sont un mélange des composées odorantes et volatiles d'origine végétales obtenues, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par expression à froid (**Seguin et al., 2001**).

I-1-3 Rôle physiologique

Beaucoup de plantes produisent les huiles essentielles en tant que métabolites secondaires, mais leur rôle dans les processus de la vie de la plante reste encore mal connu. En effet, les huiles essentielles peuvent avoir plusieurs effets apparent « utiles » qui ont été décrits tels que :

- Réduction de la compétition des autres espèces de plante (allélopathie) par inhibition chimique de la germination des graines.
- Protection contre la flore microbienne infectieuse par les propriétés fongicides et bactéricides.
- Favoriser la pollinisation en attirant les insectes (**Bakkali, 2008**).

I-1-4 Méthodes d'extraction

Différentes méthodes sont mises en œuvre pour l'extraction des essences végétales. En général, le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature du matériel végétal à traiter (graines, feuilles, ramilles), le rendement en huile, et la fragilité de certains constituants des huiles à la température élevée.

A- Distillation

Selon **Piochon (2008)**, ils existent trois différents procédés utilisant le principe de la distillation : l'hydrodistillation, l'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodiffusion.

B- Hydrodistillation

Il s'agit de la méthode la plus simple, et de ce fait la plus ancienne utilisée où la matière végétale est immergée directement dans un alambic rempli d'eau puis placé sur une source de chaleur. Le tout est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs sont condensées dans un réfrigérant et l'HE se sépare de l'hydrolysate par simple différence de densité. L'HE étant plus légère que l'eau, surnage au-dessus de l'hydrolysate (Lucchesi, 2005).

C- L'entraînement à la vapeur d'eau

Masse végétale repose sur une grille vers laquelle la vapeur sèche est pulsée. La vapeur d'eau endommage la structure des cellules végétales et libère ainsi les molécules volatiles qui sont ensuite entraînées vers le réfrigérant. Cette méthode apporte l'amélioration de la qualité de l'HE en minimisant les altérations hydrolytiques. (Bruneton, 1993).

Ils existent d'autres techniques d'extraction des HE dont on peut citer:

D- Hydro-diffusion

Cette technique est relativement récente, elle consiste à faire passer du haut vers le bas, et à pression réduite, la vapeur d'eau à travers la matière végétale, l'avantage de cette méthode est d'être plus rapide, donc moins de dommage pour les composés volatils. (Bruneton, 1993).

E- Enflourage et Macération

Cette technique qui est la plus ancienne et très coûteuse et peu employée aujourd'hui. On l'emploie pour des fleurs sensibles, ne supportant pas un chauffage trop élevé, comme par exemple le jasmin, la violette et la rose. Les fleurs sont mises à macérer dans des graisses ou des huiles, chauffées (bain-marie ou soleil) et étalées sur des châssis en bois pendant plusieurs jours. Une fois gorgées de parfum, les corps gras sont filtrés à travers de tissus de lin ou de coton. Les huiles sont ensuite lavées à l'alcool puis filtrées et évaporées (Bruneton, 1993).

F- Extraction à froid

Elle constitue le plus simple procédé, mais ne s'applique qu'aux agrumes dont l'écorce de fruit comporte des poches sécrétrices d'essences. Le procédé consiste à broyer à l'aide de presse, les zestes frais pour détruire les poches afin de libérer l'essence. Le produit ainsi obtenu porte le nom d'essence, car il n'a subi aucune modification chimique (Roux, 2008).

G- Extraction aux solvants volatils

Cette technique est utilisée pour les fleurs ne supportant pas la chaleur, et dont le rendement en huile essentielle est faible. Les solvants très volatils par exemple l'éther, et l'hexane qui s'évaporent rapidement sont employés. Le solvant lave la matière première qui subira après une décantation, concentration, et une distillation partielle. Ce solvant volatil est alors séparé de « concrète » par filtrage, puis glaçage de -12°C à -15°C. La précieuse substance ainsi obtenue est à nouveau filtrée et concentrée à faible pression (Bruneton, 1993).

H- Extraction assistée par micro-ondes

L'extraction assistée par micro-ondes est une nouvelle technique qui combine l'utilisation des micro-ondes et d'autres méthodes traditionnelles. Dans ces procédés, la matière végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la

pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques : condensation, refroidissement et décantation (**Hemwimon et al., 2007**).

I-1-5. Composition chimique des huiles essentielles

Sur le plan chimique, les huiles essentielles sont des mélanges de structure extrêmement complexes, pouvant contenir plus de 300 composés différents. Ces substances sont des molécules très volatiles appartenant pour la grande majorité à la famille des terpènes comme les monoterpènes (myrcène, β -pinène γ -terpinène) et les sesquiterpènes (β -caryophyllène, α -humulène, β -bisabolène) (**Svoboda et Hampson, 1999**).

A- Les composés terpéniques

Selon **Guignard (1999)**, les composés terpéniques sont des hydrocarbures naturels, de structure cyclique ou chaîne ouverte. Leur particularité structurale la plus importante est la présence dans leur squelette d'unité isoprénique à 5 atomes de carbone (C_5H_8) ils sont subdivisés selon le nombre d'isoprènes en :

- **Monoterpènes ($C_{10}H_{16}$)** : formés de deux isoprènes, sont les composés les plus volatils et représentent la majorité des huiles essentielles soit 90 %.
- **Sesquiterpènes ($C_{15}H_{24}$)** : il s'agit de la classe la plus diversifiée des terpènes, elle contient plus de 3000 molécules. Ils sont souvent représentés en faible quantité dans les huiles essentielles (**Bruneton, 1999 ; Hernandez-Ochoa, 2005**).
- **Diterpènes ($C_{20}H_{32}$)**.
- **Tétraterpènes** : huit isoprènes qui conduisent aux caroténoïdes.
- **Polyterpènes (C_5H_8)_n** : où n peut être de 9 à 30 (**Hernandez-Ochoa, 2005**).

Les terpénoïdes : sont des terpènes avec une ou plusieurs fonctions chimiques (alcool, aldéhyde, cétone, acide...etc.)

B- Les composés aromatiques

Cette classe comprend des composés odorants comme la vanilline, l'eugénol, l'anéthol, et bien d'autres. Ils sont moins abondants que les terpènes et sont en majorité les dérivés du phénylpropane.

C- Les composés d'origines diverses

Il existe un nombre non négligeable de produits résultants de la dégradation des terpènes non volatils qui proviennent de l'auto-oxydation par exemple des carotènes, ou des acides gras comme les acides linoléique et l' α -linoléique(**Piochon, 2008**).

I-4-6. Propriétés et domaines d'utilisation des huiles essentielles :

Du fait de leurs propriétés multiples, les huiles essentielles sont utilisées dans les domaines suivants :

- **Parfumerie et industrie cosmétique** : soin pour la peau, les huiles essentielles favorisent le renouvellement des cellules, retardant ainsi le vieillissement cellulaire, et sont utilisées contre les rides, la peau sèche, cellulite, vergetures et aussi pour le soin des ongles (**Moro Buronzo, 2008**).

- En pharmacie : action antiseptiques et action antispasmodique et sédatrice, s'exerçant principalement au niveau digestif (**Roux et Catier, 2007**).
- Industrie Agro-alimentaire : les huiles essentielles sont aussi utilisées comme conservateurs alimentaires (**Meyer et al, 2004**).

I-2 Les huiles essentielles étudiées

Dans notre étude, nous nous sommes intéressés à deux huiles essentielles, celle du romarin officinal et celle de la menthe poivrée.

I-2-1 La Menthe poivrée

A. Historique

Les feuilles de la menthe poivrée ont été trouvées dans des pyramides égyptiennes datant du premier millénaire avant J-C, le nom «mentha» vient du grec « Minthe » et du latin « menta » «pipérata» signifie poivrée.

Menthe poivrée a été reconnue et bien décrite en (**1696**) par **Ray**, aux environs de Londres, à Mitcham, où cet hybride est apparu, d'où son deuxième nom : Menthe Anglaise, sa culture s'est répandue ensuite dans toute l'Europe Occidentale et Méridionale, et ultérieurement aux USA (**Moyese, 1971**).

B. Généralités sur la plante

C'est une plante vivace qui fait partie de la famille Lamiaceae, et du groupesystématique dicotylédones. Les exigences de la culture de cette plante sont :

- Température : la menthe craint les basses températures, elle entre en repos végétatif pendant l'hiver. Il est possible qu'elle ait besoin du froid, mais si le sol est gelé profondément et longtemps, il peut y avoir une destruction mécanique des racines.
- Sol : elle peut être cultivée dans tous les sols sauf dans les terres trop argileuses, humides et froides en hiver.
- Altitude : la menthe poivrée peut être cultivée en climat de montagne, tempéré, humide jusqu'au 900-1000m d'altitude et en climat de montagne méditerranéen, à condition d'arroser pendant la sécheresse d'été(**Guenther, 1984**).

C. Classification

La classification botanique de la menthe poivrée est portée dans le tableau I:

Tableau I : Classification botanique de *Menthapiperata*.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Gamopétales
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiacées ou Labiées
Genre	Mentha

C. Appellation et étymologies

Selon Branger (2004), les différentes appellations de la menthe poivrée mentionnées sont :

- Française : Menthe anglaise, menthe poivrée, Sentebon.
- Anglaise : peppermint.
- Espagnole : Hierbabuena, menta.
- Portugaise : Menta.
- En arabe : الحارنعناع

D. Description

Menthe poivrée est originaire du Moyen-Orient. Elle résulte d'une hybridation entre la menthe aquatique (*Mentha aquatica*) et la menthe verte (*Mentha spicata*). Elle pousse sur des sols frais et humides riches en humus jusqu'à 1,8 m d'altitude. Plante commune dans toutes les régions tempérées du monde, et plus particulièrement d'Europe Centrale et du sud où elle est également abondamment cultivée (Benayad, 2008).

Il s'agit d'une plante vivace à rhizome long, rampant, traçant, chevelu. La tige, de 50 à 80 centimètres, dressée ou ascendante, se divise en rameaux opposés. Ses feuilles mesurent de 4 à 10 cm de long, elles sont ovales, opposées, courtement pétiolées, lancéolées, aiguës, dentées, sont d'un très beau vert et se teignent de nuances rougeâtres au soleil et de rouge cuivré à l'ombre, elles sont recouvertes de gros poils sécréteurs arrondis dans lesquels s'accumulent les substances volatiles odorantes (Edrissi, 1982).

Les fleurs, violacées, forment des épis très courts, ovoïdes, à l'extrémité des rameaux. Le fruit, divisé en quatre parties, est entouré d'un calice persistant. Son odeur est puissante, sa saveur piquante et rafraîchissante (Jahandiez et Marie, 1934).

E- Composition chimique de l'huile essentielle de la menthe poivrée

Selon Nair (2001) les principaux constituants de l'huile essentielle de la menthe poivrée sont :

- **Monoterpènes**: limonène (4.01%), bêta-pinène (0.85%), (Z)-bêta-ocimène (0.66%), alpha-pinène (0.55%), gamma-terpinène (0.47%), sabinène (0.40%), alpha-terpinène (0.27%), myrcène (0.26%), para-cymène (0.22%), (E)-bêta-ocimène (0.19%)
- **Monoterpénols**: menthol (40.17%), néomenthol (4.26%), cis-hydrate de sabinène (0.53%), linalol (0.25%)
- **Oxydes** : 1,8-cinéole (4.71%), menthofurane (0.80%), oxyde de caryophyllène (0.11%)
- **Monoterpénones**: menthone (24.43%), isomenthone (2.89%), pipéritone (0.80%), pulégone (0.70%)
- **Esters terpéniques** : acétate de menthyle (4.29%), acétate de néomenthyle (0.27%)
- **Sesquiterpènes** : germacrène-D (1.47%), bêta-caryophyllène (1.42%), bêta-bourbonène (0.45%), (E)-bêta-farnésène (0.38%), bicyclogermacrène (0.37%), bêta-élémente (0.13%)
- **Sesquiterpénols**: viridiflorol (0.27%).

F-Utilisations

En thérapeutique, la menthe est utilisée contre la fièvre, la faiblesse, la toux, les nausées, les maux de l'estomac, la mélancolie, l'hystérie, les troubles de la vue, elle présente aussi des propriétés médicales, on cite à titre d'exemple : stimulante du système nerveux, tonique, stomachique, antiseptique, analgésique et vermifuge, on l'utilise aussi contre les parasites.

Les tiges et les fleurs de la menthe sont brûlées pour chasser les puces des matelas et des animaux domestiques, on peut aussi placer les sachets de menthe auprès des sacs de grains et de fromage pour chasser les rongeurs (**Fournier, 1948**).

Dans le domaine alimentaire, on peut citer les besoins d'agrément, les crèmes, les chocolats, les bonbons, les pâtes à mâcher, les desserts, etc. (**Aristide, 1964**).

La menthe poivrée peut également être trouvée dans quelques shampooings et savons, qui donnent aux cheveux un parfum de menthe et produisent une sensation de refroidissement sur la peau (**Benayad, 2008**).

I.2.2 Le romarin officinal

A. Historique

Romarin est très répandu dans le bassin méditerranéen, d'où il est originaire. Il a toujours joué un grand rôle dans l'histoire des peuples de ces régions. Pour les grecs, la plante est sacrée. Il est utilisé comme encens pour améliorer et stimuler la mémoire. Les Egyptiens l'utilisaient dans la médecine populaire (**Norber, 1983**).

An 14^{ème} siècle, le romarin est rendu célèbre dans la formule du vinaigre de quatre plantes : romarin, lavande, marjolaine et menthe. Jusqu'au 17^{ème} siècle son essence servait à la préparation de l'eau de la reine de Hongrie et les eaux de Cologne (**Vernon et Richard, 1976**).

Les médecins arabes firent du romarin grand usage et sont les premiers qui réussirent l'extraction de son huile essentielle, cette huile essentielle a été très employée au moyen âge et elle figure dans diverses formules (**Bardeau, 2009**).

B. Généralités sur la plante

Romarin est une plante des coteaux arides garrigues et lieux rocheux de la région méditerranéenne et même un peu plus au sud jusqu'aux confins sahariens depuis l'antiquité, il est employé pour améliorer et stimuler la mémoire encore aujourd'hui en Grèce. Les étudiants en font brûler dans leurs chambres en période d'examens (**Boullard, 2010**).

C. Classification

La classification botanique du romarin est portée tableau II:

Tableau II : Classification botanique de *Rosmarinus officinalis*.

Règne	Végétal
Embranchement	Spermaphyte
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Asterideae

Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	Rosmarinus
Espèce	Rosmarinusofficinalis

(Hammiche, 1995)

D. Appellation et étymologies

Nom scientifique de (*Rosmarinusofficinalis* L.) vient du latin « Ros : signifiant arbrisseau ou buisson » et « officinalis : propriétés médicinales ». Il a plusieurs noms vernaculaires : rose marine, encensier, herbe aux couronnes, herbes des troubadours. Les grecs l'appelaient « la fleur par excellence » (Mességué, 1983).

Selon Beloued (2001), plusieurs appellations sont attribuées au *Rosmarinusofficinalis*.L à savoir :

- Les noms arabes : Klil, Hatssa, Loubon, Hassalban.
- Les noms berbères : Lazir, Aziir, OuzbirTouzala.

E. Description

Rosmarinusofficinalis, dont le nom rose de mer vient simplement du fait qu'il pousse spontanément au bord de la mer (Iserin et al., 2007). C'est un arbrisseau de 50 cm à 1 mètre et plus, toujours vert, très aromatique, très rameux, très feuillé (feuilles en forme d'Égailles blanchâtres et duveteuses par dessous). Les fleurs sont d'un bleu pâle ou blanchâtre. Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante et tenace (Delille, 2007).

F- Composition chimique de l'huile essentielle du romarin

Composition chimique de l'huile essentielle du romarin selon Beolons (1985) est insérée dans le tableau III :

Tableau III : La composition chimique de l'huile essentielle du romarin officinale.

Composition chimique	Eléments	Concentration
Les éléments Majeurs	- Monoterpènes : alpha-pinène	(29.95%)
	- Camphène	(8.78%)
	- Limonène	(4.11%)
Les éléments Mineurs	- para-cymène	(1.96%)
	- béta-pinène	(1.31%)
	- myrcène	(1.30%)
	- alpha-terpinène	(0.41%)
	- terpinolène	(0.40%)
	- gamma-terpinène	(0.37%)
	- Esters terpéniques	(7.38%)
	- acétate de bornyle	(8.17%)
	- monoterpénols : bornéol	(1.24%)

(Beolons, 1985)

G- Utilisation

Romarin est souvent cultivé pour son huile essentielle. Dans la médecine traditionnelle, ses parties aériennes sont utilisées par voie orale pour soulager la colique rénale, les dysménorrhées et comme antispasmodique. Il est considéré utile pour contrôler l'érosion du sol. L'huile essentielle du romarin a été largement répandue pendant des siècles, comme un des ingrédients en produits de beauté, savons, aussi bien pour l'assaisonnement et la conservation des produits alimentaires (**Heinrich et al., 2006**).

CHAPITRE 11

Physiologie de la peau et des cheveux

La peau

II-1. Structure de la peau

Frontière de l'organisme, la peau n'est une simple enveloppe qui recouvre notre corps, c'est une architecture complexe, un véritable organe comme le foie ou le cœur.

La peau est composée de trois couches (épiderme, derme et hypoderme) dont la composition et les fonctions sont spécifique à chacune (Peyrefitte, 1995 ; Vautrin, 2005).

- **Epiderme** : c'est la couche mince et résistante, située à la surface de la peau, composée elle-même de plusieurs sous couche. c'est dans la plus profonde de ces couches, que se trouvent les mélanocytes, cellules responsables de la couleur de la peau.
- **Le derme** : c'est le tissu de soutien, c'est en quelque sorte la charpente de la peau. Les fibroblastes (cellule spécifique du derme) fabriquent deux types de fibres, le collagène et l'élastine, elles donnent à la peau sa résistance (maintien) et son élasticité (souplesse).
- **L'hypoderme** : c'est la couche profonde, réservoir de graisse et d'énergie pour l'organisme (figure 3) (Vautrin, 2005 ; Stiller, 2008).

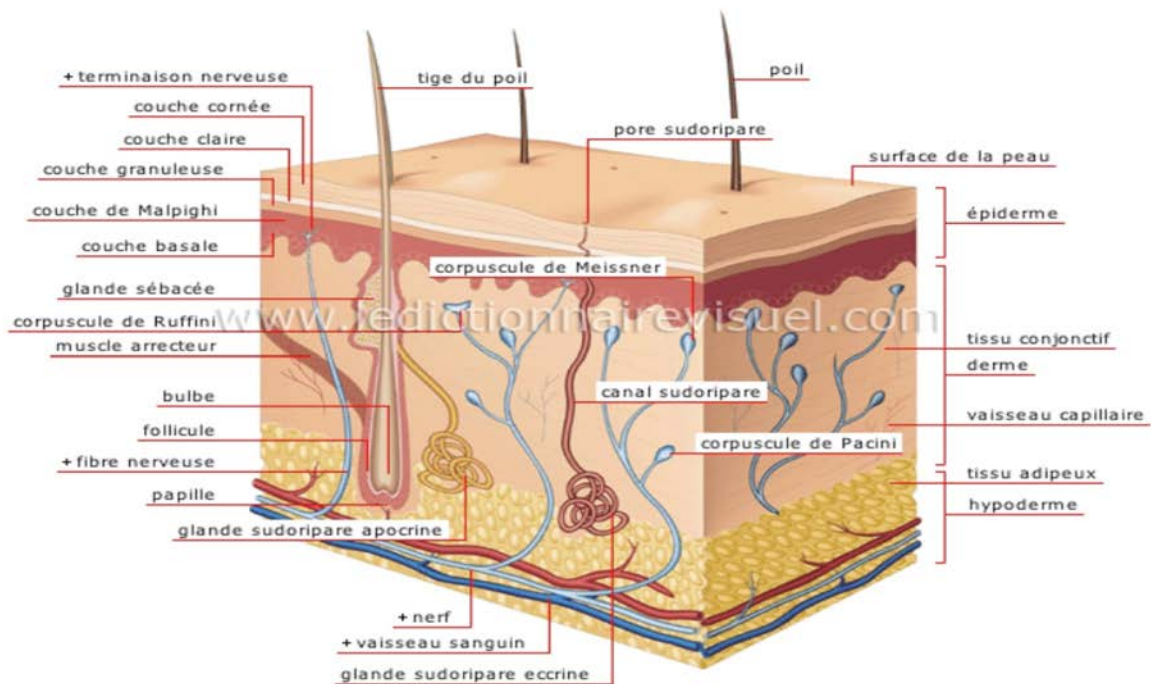


Figure1 : Schéma représentatif de la physiologie de la peau(Vautrin, 2005).

II-2. Le cuir chevelu

Comme la peau, le cuir chevelu est composé en surface de trois couches: l'épiderme, le derme et l'hypoderme.

L'épiderme a un pH de 5,6 et est recouvert de sébum et de sueur, permettant la lubrification et la protection des cheveux.

Le cuir chevelu apporte donc les éléments nécessaires à la croissance, la santé et la beauté des cheveux. (Bouhanna et Beygagne, 1999).

II-3 Les différentes couches du cuir chevelu

Le cuir chevelu a une épaisseur moyenne de 6 mm. (Bouhanna et Beygagne, 1999).

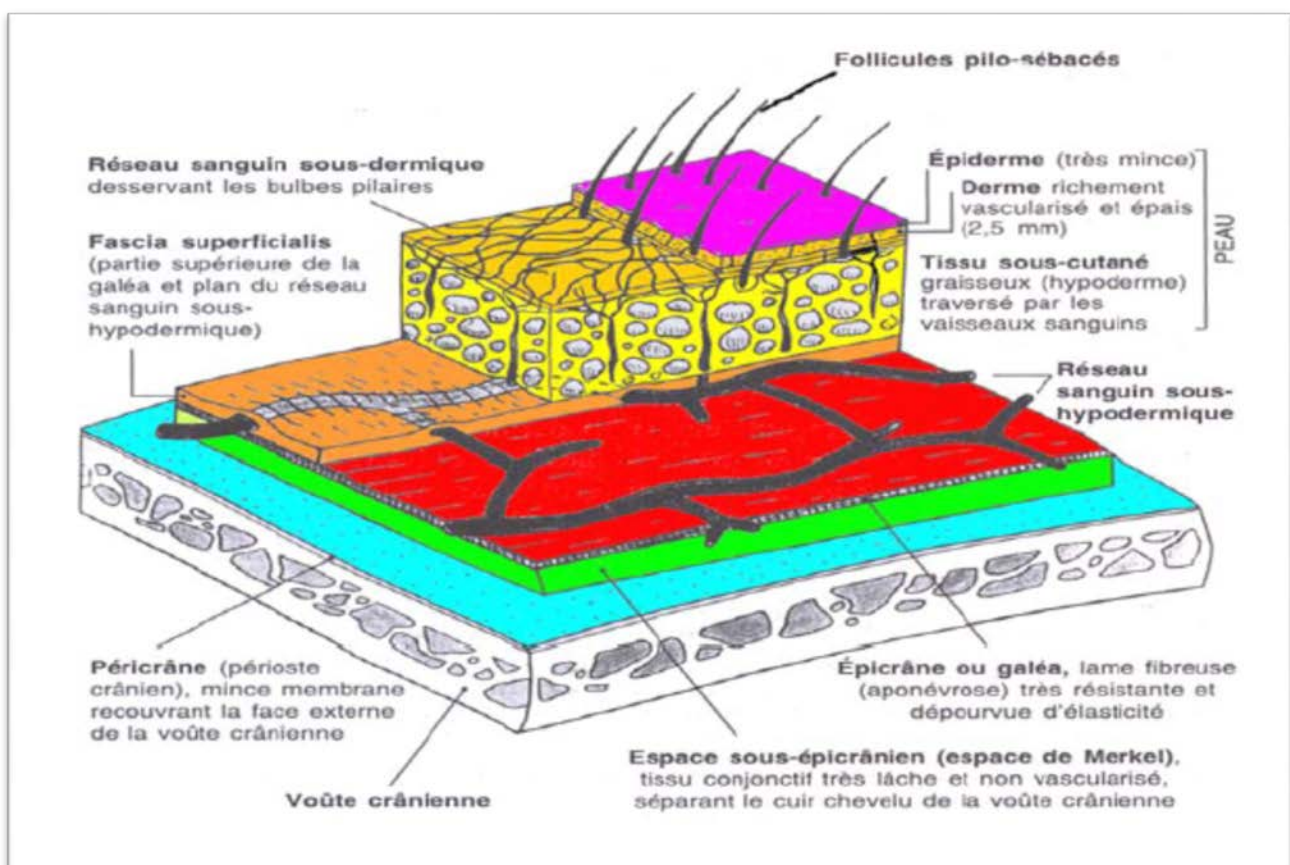


Figure 2: Les différentes couches du cuir chevelu (Sebamed, 2013).

De la superficie à la profondeur, on peut observer :

- La peau, avec une vascularisation et une épaisseur importante du derme.
- Le tissu sous-cutané avec un tissu graisseux et des travées fibreuses conjonctivo-élastiques.
- La galéa ou épicrâne, est une aponévrose tendue entre le muscle frontal, le muscle occipital, et les muscles auriculaires (Bouhanna et Beygagne, 1999).

II-4. Les cheveux

Cheveu contient beaucoup d'informations tant par sa couleur, son aspect et sa texture, sa forme (souple, ondulée ou frisée), son épaisseur, son degré de blanchiment, la présence de teinture ou de décoloration...

Les cheveux peuvent beaucoup varier d'un individu à un autre, et même d'un cheveu à un autre pour une même personne.

Ils peuvent présenter des variations dans leur forme en fonction de la race mais également dans leur croissance en fonction de l'âge, du sexe et des saisons(**Sarfati, 2013**).

II-4-1 Constitution chimique et physique

Cheveu est constitué essentiellement de kératine, de protéines fibreuses, de chaînes polypeptidiques, de mélanine, d'eau, de faibles quantités de lipides (céramides, cholestérol, acides gras) et de métaux à l'état de trace provenant de l'extérieur.

Le cheveu est constitué par trois parties :

- La racine pileaire
- La tige pileaire
- Le follicule pilo-sébacé (**Bouhanna et Beygagne, 1999**).

II-4-2. La racine pileaire

A la base du cheveu, se trouve la racine pileaire constituée par le bulbe. Cette zone comprend la matrice pileaire épithéliale et la papille dermique.

La matrice pileaire présente plusieurs parties :

Une zone germinative profonde

Une zone pigmentée

Une zone de kératogénèse.

II-4-3. La tige pileaire

Elle est située au-dessus de l'orifice folliculaire, elle comporte trois couches de l'intérieur vers l'extérieur :

- Une zone médullaire
- Une zone corticale
- Une cuticule.

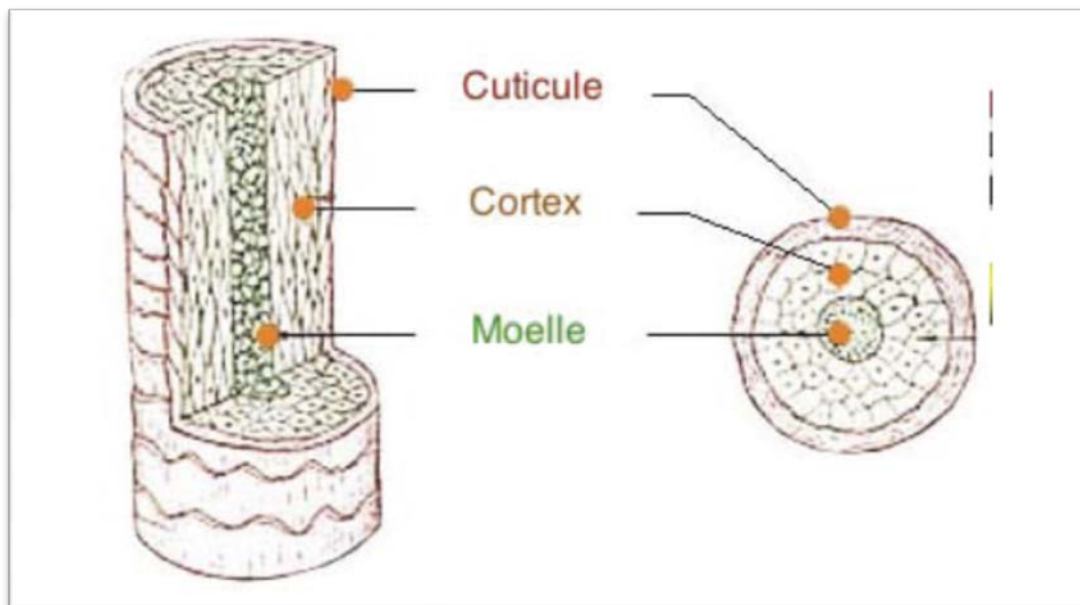


Figure 3: Coupe d'une tige pileuse ; longitudinale à gauche et transversale à droite. (Bouhanna et Beygagne, 1999).

II-4-3. Le follicule pilo-sébacé

Il est constitué de trois parties :

- Une partie superficielle
- Une partie profonde
- Une glande sébacée

II-5. Les caractéristiques physico-chimiques des cheveux

- **Les propriétés mécaniques** solidité, élasticité et plasticité.

L'élasticité et la plasticité sont assurées grâce à la configuration hélicoïdale de chaînes polypeptidiques reliées entre elles par des liaisons disulfures, salines et hydrogènes.

- **Les propriétés électriques**

Les cheveux libèrent des charges électriques lors d'un frottement.

- **Les propriétés de surface**

Le cheveu est perméable à l'eau, au sébum, aux colorants et aux tensioactifs surtout à pH alcalin. (Astrade, 2001).

CHAPITRE III

Les produits cosmétiques

III-1. Les produits de protection solaire

A partir de la première utilisation de la boue et d'argile pour protéger la peau contre les rayons brûlants du soleil, les produits solaires d'aujourd'hui ont parcouru un long chemin de l'efficacité, la commodité et l'élégance (**Lim et Draelos, 2009**).

A. Définition

Les produits destinés à protéger l'homme contre les rayonnements ultraviolets, sont dénommé « produit de protection solaire », ils doivent apporter une protection associée contre les rayons UVA et UVB pour revendiquer cette appellation (**Beani et al.,2006**).

Ces dernières années, les produits solaires ont connu une évolution marquante. Ils assurent une meilleure protection contre les UV, garantissant une protection à large spectre, et sont bien agréable d'emploi en terme cosmétique (**Roelandts, 2005**).

B. Caractéristiques

Compte tenu des propriétés attendues de protection de la peau contre les rayons UV, un produit de protection solaire doit répondre aux exigences et qualités spécifiques suivantes :

- Il doit avoir un large spectre ultraviolet (UVA-UVB) et IR.
- Il doit être bien toléré et avoir une bonne substantivité pour résister à la sueur et l'eau.
- Doit être d'une tolérance locale irréprochable pour la peau et les muqueuses (pour éviter l'irritation, l'allergie, la photo-irritation et la photo-allergie).
- Un bon produit solaire, doit permettre la fixation des filtres sur couche cornée et ne pas favoriser sa diffusion en profondeur dans le tissu cutané, cette dernière pouvant être responsable de phénomène d'intolérance (**Avenel-Auban, 2008**)

C. Composition des crèmes de protection solaire

Comme tous les produits cosmétiques, une crème de protection solaire est composée :

- **d'un ou plusieurs principes actifs**

Ce sont des substances ou des mélanges de substances d'origine naturelle ou synthétique, qui confèrent une spécificité à un produit fini (**Martini, 2008**).

Dans les produit solaires, le choix du ou des principes actifs, ainsi que leur concentration, sont limités par la législation aux produits agréés pour leur innocuité, il est fonction du niveau de protection souhaité. Il s'agit habituellement de filtres chimiques absorbant les UV ou de poudres réfléchissant, diffractant ou absorbant les UV (**Bonnevalle et Thomas, 2008**).

- **Des excipients**

On entend par excipient, tout support spécifique qui accompagne des principes actifs a visée médicamenteuse ou cosmétologique, afin de les rendre plus efficaces et mieux adaptés à leur finalité (**Mautrait et Raout, 2009**).

Par ailleurs, l'excipient doit être inerte vis-à-vis des principes actifs des matériaux de conditionnement et de l'organisme(**Le Hir, 1998**).

- **Des adjuvants cosmétiques**

Les adjuvants regroupent différentes substances qui vont être incorporées dans le produit cosmétique pour le conserver, le parfumer et le colorer :

- les conservateurs ont pour but d'empêcher la prolifération des micro-organismes. Ils sont, pour la majorité d'origine synthétique mais on assiste à l'émergence de conservateurs d'origine naturelle qui seront retrouvés dans la plupart des cosmétiques bios ;
- les colorants vont permettre de colorer la préparation pour lui donner un aspect plus attractif;
- les parfums sont des solutions plus ou moins concentrées de substances odorantes.
- La formulation d'un produit cosmétique représente donc un travail long, complexe et fastidieux car le produit fini doit répondre à de nombreuses contraintes :
 - Être efficace
 - Ne pas nuire à la santé du consommateur
 - Avoir une texture agréable qui donnera envie aux consommateurs d'acheter
 - Ne pas se dégrader au cours du temps (**Martini, 2006**).

III-2. L'après shampoing (démêlent)

A- Définition

Produit cosmétique présenté sous forme de liquide appliqué après le shampoing. Il assouplit, nourrit et hydrate les cheveux(**Journal des femmes, 2014**).

B- Composition chimique

La figure suivante représente une composition générale d'un après shampoing :

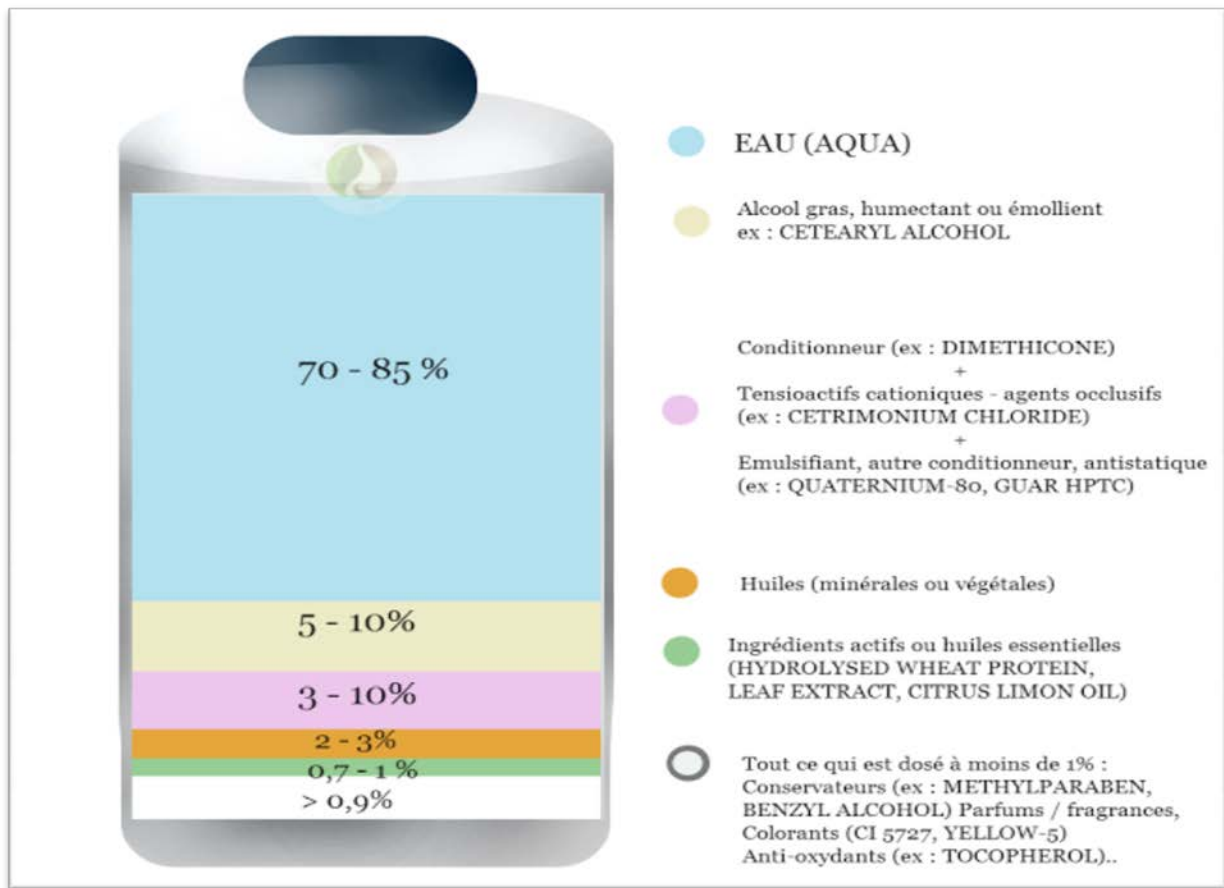


Figure 4: Composition chimique générale d'un après shampooing. (Blogger, 2013).

A- L'eau :

70 à 85%

L'eau sert de diluant. Elle permet de remplir le flacon à moindre coût. Dans les produits bio, elle peut être remplacée par une eau florale ou de l'aloévera.

B- Un alcool gras, un émollient :

5 à 10 %

La plupart du temps, le second ingrédient des après shampooings est l'alcool cétéarylique. Un alcool gras qui sert d'émollissant et donne de la texture au produit. On trouve aussi souvent de la glycérine ou de la gomme xanthane.

C- Les agents filmogènes et démêlants

3 à 10%

Ce sont les conditionneurs capillaires. On y trouve les silicones et leurs substituts, tout ce qui peut faire office de démêlant, d'antistatique et les tensioactifs cationiques. Ce pourcentage peut varier selon le produit. Beaucoup plus élevé dans les produits "pour cheveux secs".

D- Des huiles minérales ou végétales

De 2 à 3%

C'est là qu'intervient l'argument de vente préféré des marques : ce produit contient telle ou telle huile naturelle. Quand ce n'est pas purement de la paraffine liquide ou des huiles minérales. Qui viennent compléter l'action occlusive des ingrédients précédents.

E- Les ingrédients actifs

0,7 à 1%

C'est dans cette partie qu'on peut trouver les huiles essentielles, les extraits végétaux, les protéines (qu'on retrouve très souvent dans les après-shampooings chimiques).

F- Les autres ingrédients

Dans cette dernière partie, tout ce qui se dose **à moins de 0,9%**:

Les conservateurs et acidifiants : Acide citrique, Méthyle parabène, Alcool benzyle, Formol.

Les colorants : CI 6486, rouge basique.

Le parfum : Parfum/FRAGRANCE.

Ces ingrédients ont tous un pourcentage inférieur ou égal à 0,9%. On y trouve les acidifiants, régulateurs de pH, les colorants, le parfum et les conservateurs la plupart du temps irritants. Parfois, les extraits végétaux viennent même après ces derniers (**Blogger, 2013**)

III-3. Les conservateurs en cosmétologie

Diversité des micro-organismes et des nuisances microbiennes a depuis l'antiquité contraint l'homme à se protéger et à protéger ses biens. Au fil du temps, certaines substances ou diverses formulations ont été utilisées empiriquement et appliquées selon des procédures variées adaptées à chaque situation. Aujourd'hui, nous disposons d'une multitude d'agents antimicrobiens et d'un éventail de procédés de traitement dont l'efficacité théorique est quasiment parfaite (**Roquebert, 2002**).

III-3-1. Définition

Ce sont des substances d'origine naturelle ou synthétique capables de s'opposer à l'altération d'un produit. Cette altération, de type physicochimique, peut être due à la présence de micro-organisme ou à l'oxygène de l'air. La Directive Européenne Cosmétique entend par agents conservateurs « les substances qui sont ajoutées comme ingrédient à des produit cosmétiques principalement pour inhiber le développement de micro-organisme dans ces produits » (**Martini, 2008**).

Ils sont omniprésents dans les produits cosmétiques, les produits pharmaceutiques ainsi que les produit finis, en raison de leur efficacité et leur innocuité (**Frimat et Cleenerverck, 2004**).

III-3-2. Conservateurs autorisés dans les préparations cosmétiques

Législation autorise l'utilisation d'une cinquantaine de molécules antimicrobiennes, mais les produits les plus utilisées sont représentés dans le tableau IV :

Tableau IV : Principaux conservateurs utilisés dans les produits cosmétiques.

Classe chimique	Dénomination	Activité	Concentration maximale
Acides et esters	Acide sorbique	Fongistatique	0,6%
	Acide propionique	Fongistatique	0,4 à 0,8%
	Parabens	Bactéricides et	
	Méthyl,éthyl,butyl	Fongicides	
Alcools	Benzylrique	Bactériostatique	1%
	Phénoxétol	Bactériostatique	
Donneurs de formol	Bronopol	Large spectre	0,1%
	Bronidox		0,1% (produits rincés)
	Germall 115		0,6%
	DMDM		0,05%
Organomercuriels	Thiomersal	Très large spectre	0,007% en Hg
	Acétate phényl Hg		
Divers	Triclosan	Bactéricide	0,3%
	Kathon CG	Très large spectre	0,0015%
	Méthyl	Très large spectre	0,1%
	dibromoglutaronitrile		0,025% (antisolaires)
Mélange	Euxyl K 100	Très large spectre	
	Euxyl K 400		
	Phenonip		
	Nipasta		

(Martini, 2008)

III-3-3. Critères de choix d'un conservateur antimicrobien

Selon **Martini et Seiller (2006)** divers critères vont orienter le choix d'un conservateur :

- a) **la législation** : c'est le premier critère de choix. La liste positive garantit la non-toxicité du produit jusqu'à une limite de concentration maximale. En revanche, la non-allergénicité n'est pas garantie. Les réactions d'hypersensibilité ne se manifestent qu'après une utilisation intensive du produit qui touche alors un très grand nombre de personnes.
- b) **Spectre d'activité** : les conservateurs sont rarement universels, soit sur les bactéries Gram positive, soit sur les Gram négatif, soit sur les champignons ou les levures. Le spectre d'activité est généralement défini par les fournisseurs à partir de la concentration minimale inhibitrice déterminée pour chaque germe. Afin d'obtenir un spectre d'activité très large, on procède à des mélanges de substances d'activités différentes.
- c) **Solubilité dans l'eau** : les conservateurs doivent protéger la phase aqueuse des émulsions et les produits totalement aqueux. Ils doivent être hydrosolubles, mais pour être actifs, ils doivent pénétrer la membrane lipidique des microorganismes et donc être également liposolubles.
- d) **Le pH** : le pH du milieu dans lequel ils sont introduits. En effet les conservateurs acides par exemple, ne sont actifs qu'à un pH<5.

e) **Le conditionnement** : les matières plastiques, en particulier le polythène, peuvent fixer les conservateurs dans les proportions atteignant jusqu'à 50%.

III-3-4. Exemples de conservateurs antimicrobiens

Parmi les conservateurs antimicrobiens utilisés en cosmétique on peut citer :

A- Le parabène

*Généralités

Parabène est un ester d'alkyl (méthyle, éthyle, propyle, butyle, heptyle) d'acide parahydroxybenzoïque (figure 7), il se trouve naturellement dans les fruits (**Bauman, 2009**). On retrouve la présence de méthyle parabène dans les pépins de pamplemousse, dans le murier, le myrtille et la vanille (**Soni et al., 2005**).

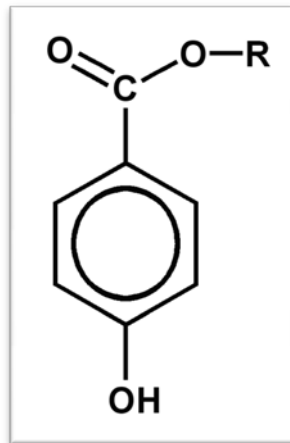


Figure 5 : Structure chimique du parabène.(**Bauman, 2009**).

Ils sont couramment utilisés pour conserver des cosmétiques et autres articles de toilettes et les médicaments (**Tarté, 2008**).

Il ya environ 25 années, il a été estimé qu'au moins 90% des produits de soins personnels, y compris déodorants, dentifrices, shampoings, crème pour corps, gel douche, crème hydratante, crème antisolaire, contiennent un ou plusieurs parabènes comme conservateurs, en raison de leur efficacité, la sécurité et la stabilité chez ce groupe de composés (**Bauman,2009**).

* Propriétés physiques et chimiques

Différents ingrédients et autres propriétés physiques et chimiques du parabène selon **Martini et Seiller(2006)** sont :

- a) **Apparence** : incolore liquide visqueux, non volatile, hygroscopique.
- b) **pH optimum** : bonne efficacité à pH<7, efficacité modérée à pH >7.
- c) **Concentration maximale autorisée** : 0,4% pour un ester.

***Mode d'action**

Parabènes sont très efficaces contre les champignons et les bactéries. Cependant, ils sont plus actifs contre les bactéries Gram positif que contre les Gram négatif (**Cashman et Warshaw, 2005**).

*** Effets indésirables**

Parabènes sont considérés comme non toxiques et non sensibilisant. En conséquence, certaines réactions d'intolérances de type allergiques se sont manifestées, et ont été relatées largement par la littérature (**Martini, 2008**).

Ainsi, **Darbre(2006)** dans un de ses articles étudiant l'effet des différents œstrogènes environnementaux sur l'apparition du cancer du sein, émet l'hypothèse d'un lien entre la présence de parabènes dans des cellules cancéreuses et l'apparition de tumeurs mammaires, lien qui n'a pu être démontré à l'heure actuelle. Quant à **Martini(2008)**, il rapporte qu'une polémique s'est actuellement instaurée concernant l'éventuelle potentialité cancérogène des parabènes.

B- Le formaldéhyde

*** Généralités**

- Dans des conditions normales de température et de pression, le formaldéhyde (formule chimique : HCHO) est un gaz incolore ayant une odeur âcre détectable à une concentration inférieure à 1 ppm (partie par million dans l'air).
- Le formaldéhyde commercialisé est surtout offert en solution aqueuse appelée « formol » ou « formaline ». Il se dégage facilement sous forme gazeuse.
- Les utilisations du formaldéhyde et de ses composés sont nombreuses en milieu de travail. Dans les laboratoires de thanatologie. Le formol est utilisé comme agent conservateur, désinfectant et déshydratant (**Goyer et al ; 2006**).

*** Propriétés physico-chimiques**

Les propriétés physicochimiques du formaldéhyde sont présentées dans le tableau V :

Tableau V : Propriétés physico-chimiques de formaldéhyde.

Forme physique	Gaz incolore à température ambiante, odeur piquante
Poids moléculaire	30,026 g/mol
Point d'ébullition	-19,1°C
Point de fusion	-92°C
Densité	1,03 à 1,06
Point d'éclair	85°C
Température d'auto-inflammation	424-430°C
Limite d'explosivité dans l'air inférieure	7% ; supérieure : 73%
Solubilité	Très soluble dans l'eau, solubles dans les solvants organiques : éther, alcool... etc.
Produits de dégradation environnementale	Essentiellement acide formique, méthylène glycol, H ₂ O et CO ₂
Facteur de conversion	1 ppm = 1,23 mg.m ⁻³ à 25°C dont ppm : partie par million dans l'air.

(INRS, 2006)

*** Mode d'action**

Mécanisme d'action conduisant aux effets du formaldéhyde après une exposition par inhalation est lié à sa forte réactivité avec les petites, moyennes et macromolécules de l'organisme.

Concernant sa génotoxicité, le mécanisme n'est aujourd'hui pas complètement élucidé. Le formaldéhyde forme des adduits avec l'ADN et ADN-protéines dans les cellules avec lesquelles il est en contact, réponse qui serait dose-dépendante et non linéaire. On observe une saturation de la détoxification par le glutathion au-delà de 4 ppm (5 mg/m³) chez le rat (corrélé avec l'augmentation non linéaire de la formation d'adduits ADN-protéines au-delà de 4 ppm). (Santé Canada, 2001)

*** Effets indésirables**

Effets sur la santé dépendent de la concentration dans l'air, de la durée d'exposition et de la sensibilité de la personne exposée. La synthèse des données toxicologiques montre qu'une exposition au formaldéhyde par voie respiratoire entraîne une toxicité locale. Des

effets irritants au niveau du site de contact, des yeux et des voies aériennes supérieures, sont mis en évidence pour des expositions aiguës et chroniques. Les symptômes pris en compte sont l'irritation des yeux accompagnée ou non de larmoiements, ainsi que l'irritation nez / gorge et la sécheresse buccale. Ces symptômes apparaissent dans la plupart des études dès les concentrations de 0,2 à 0,3 ppm (**NERIS, 2005**).

Il est également de plus en plus suggéré que de faibles expositions au formaldéhyde pourraient accroître, à long terme, le risque de développer des pathologies asthmatiques et des sensibilisations allergiques, bien que les études soient encore peu nombreuses pour permettre d'identifier un lien de causalité (**AFSSET, 2007**).

***Cancérogenèse**

Formaldéhyde est à l'origine de cancers du nasopharynx par voie respiratoire chez l'Homme, sur la base d'études épidémiologiques en milieu du travail (**CIRC, 2004**). Le mécanisme d'action avancé dans la littérature responsable de l'augmentation de l'incidence des cancers est la prolifération cellulaire pouvant se manifester à des concentrations en formaldéhyde cytotoxiques. Quant aux effets génotoxiques, ils semblent plutôt observés au site de contact et à des fortes concentrations (**Afsset, 2008**).

Etude expérimentale

Matériel et méthodes

La présente étude menée du mois de mars au mois de septembre avait pour objectif de vérifier l'effet conservateur de deux huiles essentielles extraites à partir de deux plantes aromatiques *Rosmarinus officinalis* et *Mentha piperata* sur deux produits cosmétiques ; une crème solaire et un après shampoing.

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau de laboratoire de chimie organique du département de Chimie Industrielle de l'université de Blida.

L'étude physicochimique, microbiologique et l'étude de la stabilité des huiles essentielles en tant que conservateurs ont été réalisées au niveau des laboratoires physicochimiques et de microbiologie de l'entreprise VENUS de BLIDA.

1- Matériels

1-1. Matériel non biologique

Le matériel non biologique utilisé pour cette étude est présenté dans l'annexe 1.

1-2. Matériel biologique

Le matériel biologique se compose d'une part du matériel végétal et, d'autre part, des souches bactériennes.

1-2-1 Le matériel végétal

Les plantes utilisées pour l'extraction des huiles essentielles sont récoltées au niveau du champ qui borde le département de Biologie de l'université de Blida pour le romarin et pour la menthe poivrée, les rameaux feuillés ont été récoltés au niveau du champ cultivé dans la commune d'Ouled Slama de Blida.

***Remarque :** L'échantillon du romarin pèse 5 Kg et celui de la menthe poivrée pèse 4 Kg.

1-2-2 Les souches bactériennes

Ce sont des souches pures et référencées (ATCC) qui ont été fournies par l'hôpital YAZID Mohamed de Blida, dans des tubes à essai contenant un milieu de conservation. Elles sont représentées dans le tableau VI :

Tableau VI: Caractéristiques des souches utilisées.

Souches	ATCC	Gram	Mobilité
<i>Escherichia coli</i>	25922	-	+
<i>Enterococcus faecium</i>	6569	+	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	-	+
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	70603	-	-
<i>Proteus mirabilis</i>	81235	-	+
<i>Streptococcus sp</i>	12392	+	-

2- Méthodes

2-1. la récolte des plantes

La quantité des plantes (romarin et menthe poivrée) nécessaire à cette étude a été récoltée au mois de Février pour le romarin et fin d'Avril pour la menthe poivrée, dans des conditions optimales ; selon **Teuscher et al (2005)**, la récolte doit se faire par temps couvert car les rayonnements solaires réduisent la teneur en composants volatils, après un ou deux jours de temps sec car leurs principes actifs hydrosolubles sont éliminés ou peuvent être dégradés en cas d'un taux d'humidité résiduel élevé et en fin, la récolte se fait au début de floraison ce qui correspond en général à une teneur maximale en constituants aromatiques.

Les plantes fraîchement récoltées ont été lavées et séchées à l'abri de la lumière et à une température ambiante (28 à 30°C), pendant deux semaines.



Figure 6 : La menthe poivrée (originale, 2014) *Rosmarinus officinalis. L* (originale, 2014)

2-2. Extraction des huiles essentielles

2-2-1. Entraînement à la vapeur d'eau :

*Principe :

Principe de cette méthode est de récupérer l'huile essentielle des végétaux en faisant passer à travers ces dernières un courant de vapeur d'eau. Ces vapeurs saturées en composés organiques volatiles sont condensés et récupérés par décantation (**Kebbab et Fekir, 2004**).

*Mode opératoire

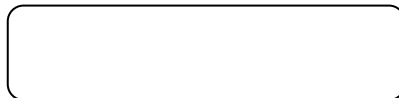
- Remplir un ballon d'eau distillée jusqu'au 2/3 de sa capacité ;

- Introduire la matière végétale (le romarin ou la menthe poivrée) dans un autre ballon de 2 litres ;
- Porter le ballon rempli d'eau distillée à l'ébullition à l'aide d'un chauffe-ballon qui permet l'obtention de la vapeur qui se charge des produits volatils et se condense au contact du réfrigérant ;
- Recueillir le condensat dans une ampoule à décanter ;
- Ajouter un solvant organique ; le di-éthyl-ether ;
- Agiter ;
- Placer l'ampoule sur un support et laisser décanter, la phase organique contenant l'huile essentielle et le solvant se trouve dans la partie supérieure ;
- Ajouter après séparation, le sulfate de sodium à la phase organique pour éliminer toute trace d'eau ;
- Filtrer ;
- Evaporer la phase obtenue sous pression réduite à une température de 40°C par un rota vapeur ;
- Recueillir le résidu obtenu qui représente l'huile essentielle.

2-3. Détermination du rendement des huiles essentielles

Rendement en huiles essentielles est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse de la matière végétale utilisée (**Pharmacopée européenne, 2000**).

$$R_{HE} = (M_{HE} / M_{MV}) \cdot 100$$



R_{HE} : le rendement en huile essentielle (%).

M_{HE} : la masse de l'huile essentielle (g).

M_{MV} : la masse de la matière végétale (g).

2-4. Analyses des huiles essentielles

2-4-1. Analyses organoleptiques

Huile essentielle extraite est soumise à des tests afin d'évaluer ses caractères organoleptiques, notamment l'aspect, la couleur et l'odeur.

- **Aspect** : l'aspect d'une huile essentielle dépend des produits qui la constituent, il peut paraître sous forme solide, liquide ou solide-liquide. Il est lié au pouvoir de dissolution de la matière végétale.

Cette caractéristique a été vérifiée à l'œil nu.

- **Couleur** : la couleur d'une huile essentielle dépend des produits qui constituent l'extrait. Certains solvants ont le pouvoir d'extraire beaucoup de pigments, ce qui intensifie la couleur de l'huile.

Cette caractéristique a été vérifiée à l'œil nu.

- **Odeur** : l'odorat est un sens chimique très sensible. De plus, d'après la nature du système olfactif, une substance pour être sentie doit être volatile.

A 3 gouttes d'huile sont ajoutés 5ml d'alcool à 90% qui sont agités avec 10g de saccharose pulvérisé. L'odeur est ainsi semblable à celle de la plante ou des parties composant la plante.

2-4-2. Analyses physico-chimiques

A- Détermination de la densité relative (ISO 279 : 1998 (F))

*Principe :

A l'aide d'un pycnomètre, peser successivement des volumes égaux d'huile essentielle et d'eau, à la température de 20°C (AFNOR, 2000).

*Mode opératoire :

- Nettoyer soigneusement le pycnomètre, rincer successivement au moyen d'éthanol puis d'acétone, et sécher à l'intérieur en y faisant un courant d'air sec ;
- Peser le pycnomètre vide muni de son bouchon ;
- Remplir le pycnomètre avec de l'eau distillée récemment bouillie, puis refroidie à environ 20°C. L'ensemble est plongé dans un bain thermostatique durant 30 min en ajustant si nécessaire le niveau d'eau au trait repère ;
- Peser le pycnomètre plein, muni de son bouchon ;
- Vider le pycnomètre, rincer et sécher, effectuer les mêmes opérations, en remplaçant l'eau distillée par l'échantillon d'huile essentielle.

*Calcul

Densité relative d_{20} est exprimée par la formule suivante :

$$d_{20} = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}$$

Où :

m_0 : la masse, (en gramme), du pycnomètre vide ;

m_1 : la masse, (en gramme), du pycnomètre rempli d'eau ;

m_2 : la masse, (en gramme), du pycnomètre rempli d'huile essentielle.

B- Détermination de l'indice de réfraction (ISO 280 : 1998 (F))

***Principe**

Selon le type d'appareil utilisé, mesurage direct de l'angle de réfraction ou bien observation de la limite de réflexion totale, l'huile essentielle étant maintenue dans des conditions d'isotropisme et de transparence (AFNOR, 2000).

***Mode opératoire**

- Régler le réfractomètre en mesurant l'indice de réfraction de l'eau distillée qui doit être de 1,333 à une température de 20°C (annexe) ;
- Après ouverture du prisme secondaire, déposer 2 gouttes d'huile essentielle sur la partie centrale du prisme principale ;
- Enfin, fermer délicatement le prisme secondaire.

***Calcul**

Indice de réfraction n^t à la température de référence t et est donné par l'équation suivante :

$$n^t = n^{t'} + 0,0004 (t' - t)$$

Où :

$n^{t'}$: valeur de lecture, obtenue à la température t' .

t' : température en °C de l'échantillon.

C- Détermination de l'indice d'ester

Indice d'ester est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la saponification des esters présents dans 1g de substance. Il est calculé à partir de l'indice de saponification (I_S) et de l'indice I_A (**Pharmacopée Européenne, 2001**).

$$I_E = I_S - I_A$$

D'où :

I_E : Indice d'ester.

I_S : Indice de saponification.

I_A : Indice d'acide.

***Mode opératoire**

On introduit une prise d'essai de 2g d'huile essentielle dans un le ballon puis à l'aide d'une burette, on ajoute 25ml de la solution d'hydroxyde de potassium ainsi que des fragments de pierre ponce.

D- Détermination de l'indice d'acide (ISO 279) : 1999 (F))

***Principe**

Son principe consiste à neutraliser les acides libres par une solution éthanolique titrée d'hydroxyde de potassium(AFNOR, 2000).

***Mode opératoire**

- Peser 1g de l'échantillon pour l'essai.
- Introduire 1g de l'huile essentielle dans un ballon ; ajouter 2,5 ml d'éthanol neutralisé et 3g maximum de l'indicateur coloré, titrer le liquide avec la solution d'hydroxyde de potassium contenu dans la burette ;
- Poursuivre l'addition jusqu'à l'obtention du virage de la solution (couleur rose) persistant pendant 30s.
- Noter le volume (V) de la solution d'hydroxyde de potassium utilisé.

*** Calcul**

Indice d'acide (IA) est donné par la formule :

$$IA = V \times C \times 56,11 / m$$

V : le volume, (en millilitres), de la solution d'hydroxyde de potassium utilisée pour le titrage ;

C : la concentration exacte, (en moles par litres), de la solution d'hydroxyde de potassium ;

M : la masse, (en grammes), de l'huile essentielle.

E-Détermination de l'indice de saponification :

***Mode opératoire**

Dans une fiole de 250 ml de verre borosilicaté et d'un réfrigérant à flux, introduisez la prise d'essai ;

- Ajoutez 25ml d'hydroxyde de potassium alcoolique 0.5 N et quelques billes de verre. Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 min sauf indication contraire ;
- Ajoutez 1ml de solution de phénolphthaléine et titrez immédiatement par l'acide chloroformique 0.5N (V₁ml d'acide chlorhydrique 0.5N) ;
- Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions (V₂ ml d'acide chlorhydrique 0.5N). (Pharmacopée Européenne, 2001).

***Calcul :**

$$I_s = 28.05 (V_2 - V_1) / P$$

I_s : Indice de saponification.

V₁ : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour l'essai à blanc.

V₂ : Volume en ml d'acide chlorhydrique 0.5M utilisé pour la détermination de l'indice.

P : La masse en gramme de la prise d'essai.

2-4-3. Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles du romarin et de la menthe poivrée

Cette activité est étudiée par la méthode de l'Aromatogramme sur les germes : *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Streptococcus sp.*

***Principe**

Aromatogramme est une technique microbiologique récente qui permet d'étudier, comme un antibiogramme, la sensibilité des germes à différentes huiles essentielles. Elle permet d'évaluer le pouvoir antibactérien et antifongique des huiles essentielles (Sallé, 2004).

***Mode opératoire**

- Repiquer 2 ou 3 colonies à partir des différentes boîtes de Pétri contenant les différentes souches *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* et *Streptococcus sp* puis les mettre dans des tubes stérilisés remplis d'eau distillée ;
- Homogénéiser les suspensions ;
- Couler la gélose dans 12 boîtes de Pétri (2 boîtes pour chaque souche, une destinée pour l'HE de romarin et l'autre pour celle de la menthe poivrée) ;
- A l'aide d'un écouvillon, prendre une goutte de chaque tube (6 tubes) contenant les suspensions et ensemer (sous forme de stries serrées puis élargies en tournant les boîtes d'un angle de 45°) dans les boîtes de Pétri ;
- Préparer les disques nécessaires pour cette manipulation avec du papier absorbant découpé en petits cercles et stériliser pendant 20 minutes ;
- Imbiber les disques avec les huiles essentielles (menthe poivrée et romarin) par l'ajout de 3 gouttes de l'huile essentielle pour chaque disque ;
- Fixer ces disques sur les boîtes de Pétri déjà préparées ;
- Incuber les boîtes à 37°C pendant 48h.

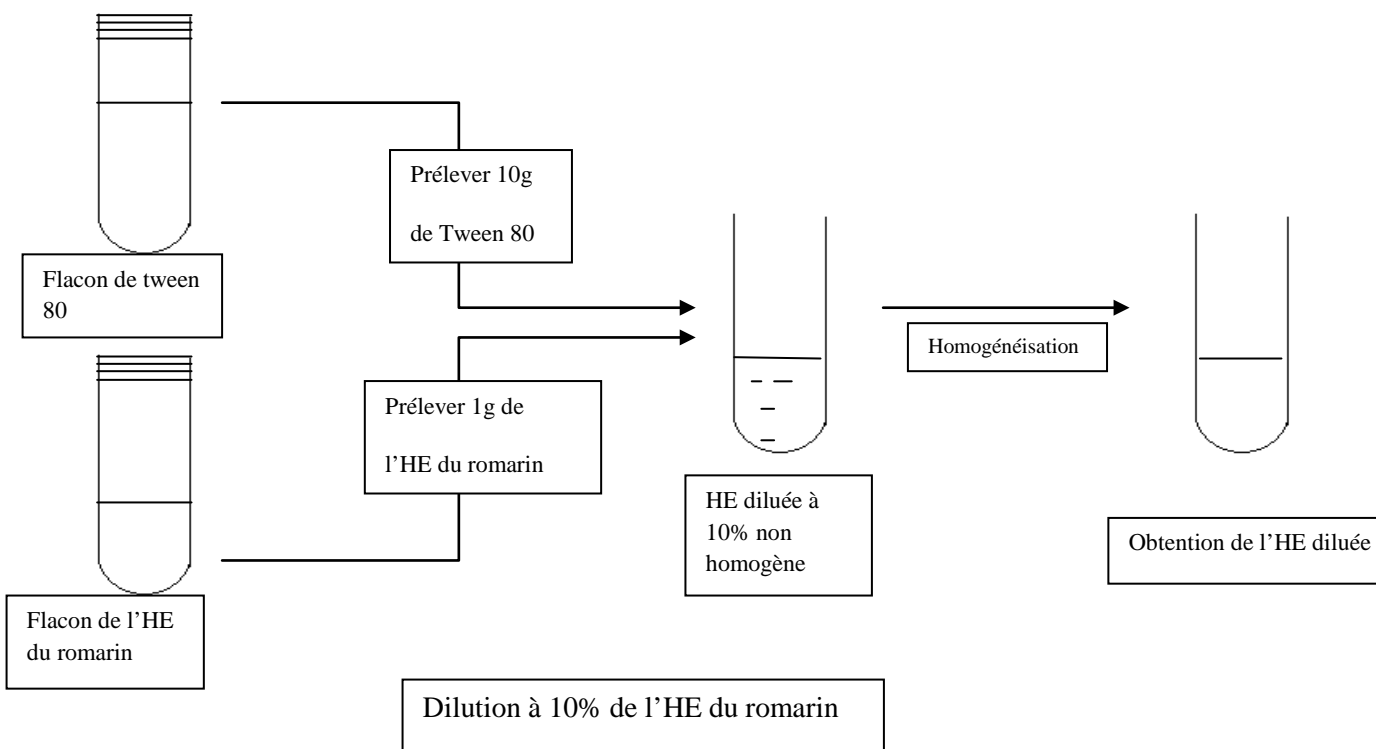
***Lecture**

- Absence de zone claire (halo d'inhibition) autour du disque : absence d'activité inhibitrice.
- Présence de zone claire autour du disque : présence d'activité inhibitrice, dans ce cas mesurer les diamètres de ces zones inhibitrices.

2-5. Le contrôle de l'effet conservateur des huiles essentielles sur les produits cosmétiques

2-5-1. Préparation des dilutions des huiles essentielles

- Préparation d'une dilution de 10% de l'huile essentielle du romarin en ajoutant dans un 1^{er} flacon 1g de cette dernière dans 10g de Tween 80 ;
- Bien homogénéiser le mélange (huile essentielle – Tween 80) ;
- Préparation d'une 2^{ème} dilution de 20% en ajoutant 2g de l'huile essentielle du romarin dans 10g de Tween 80 ;
- Homogénéiser toujours le mélange ;
- Répéter les mêmes opérations sur l'huile essentielle de la menthe poivrée comme il est représenté dans la figure 10.



Répétition de la même opération sur l'HE de la menthe poivrée

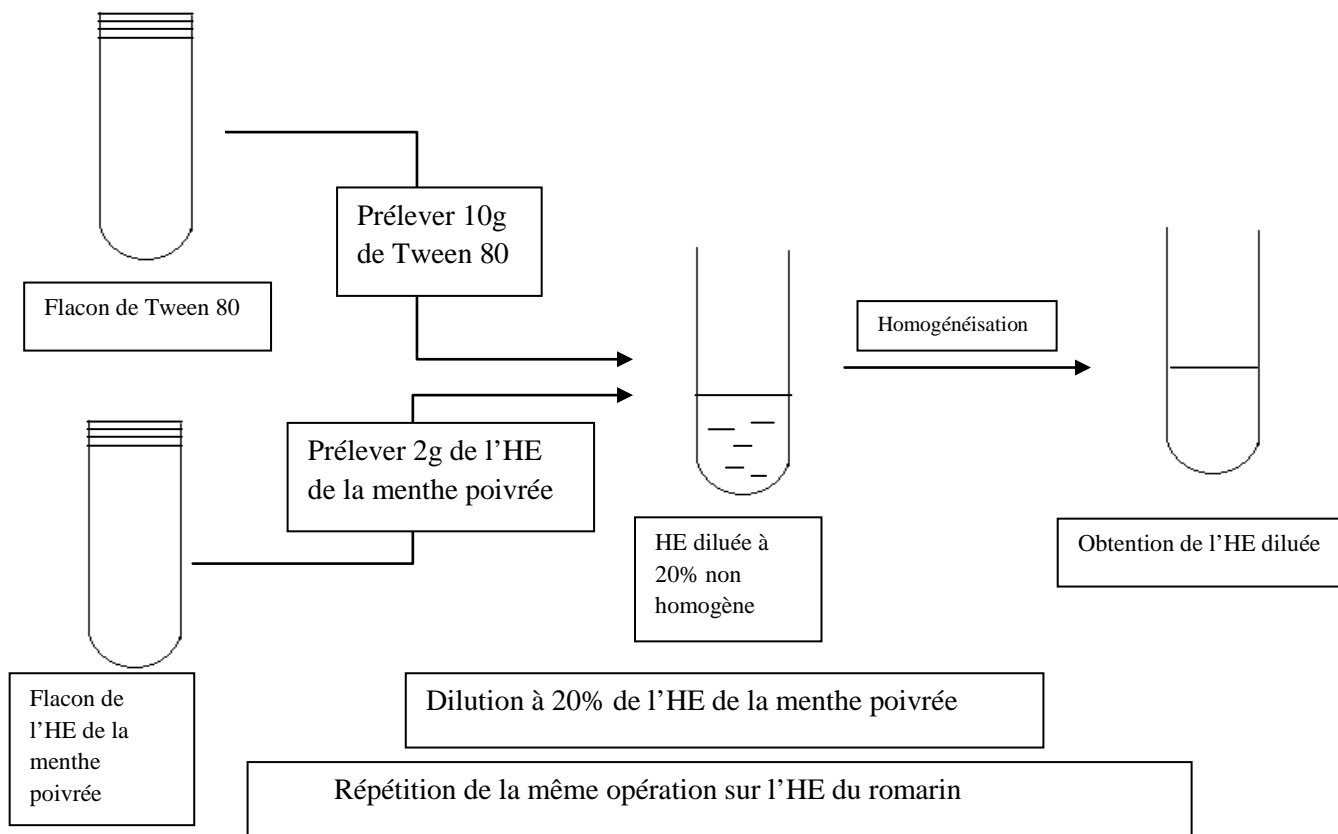


Figure 7: représentation des dilutions des huiles essentielles.

2-5-2. Etude de la stabilité des huiles essentielles incorporées dans les produits cosmétiques

Dans cette partie, les huiles essentielles extraites ont été utilisées en tant que conservateurs sur deux produits cosmétiques en remplaçant le formaldéhyde dans un après shampoing et le parabène dans la crème solaire IP 60, afin d'apprécier leur stabilité. Ce caractère concerne essentiellement les paramètres relatifs à la conservation de leur efficacité et de leur innocuité. Pour cela, nous avons réalisé :

- Une incorporation des huiles essentielles dans les deux produits cosmétiques ;
- Un contrôle microbiologique assuré par une série d'analyses.

A- Incorporation des huiles essentielles dans les deux produits cosmétiques

Les huiles essentielles ont été incorporées dans les produits cosmétiques (après shampoing et crème solaire IP60) dépourvus de leurs conservateurs synthétiques et bien homogénéisées, cette préparation a été subdivisée en 12 échantillons comme il est illustré dans le tableau suivant :

Tableau VII : Incorporation des huiles essentielles dans les produits cosmétiques.

Quantité de l'huile essentielle ajoutée au produit cosmétique approprié (ml)	Huile essentielle utilisée	Dilution de l'huile essentielle (%)
0,5	Menthe poivrée	10
1	Menthe poivrée	10
2	Menthe poivrée	10
0,5	Menthe poivrée	20
1	Menthe poivrée	20
2	Menthe poivrée	20
0,5	Romarin	10
1	Romarin	10
2	Romarin	10
0,5	Romarin	20
1	Romarin	20
2	Romarin	20

Ces échantillons vont être incubés à 37°C pour subir une analyse microbiologique dans le but d'apprécier l'efficacité de l'huile essentielle en tant que conservateur.

***Remarque :** On refait les mêmes opérations pour la crème solaire.

2-5-3. Contrôle microbiologique

Les microorganismes recherchés dans l'après shampoing sont :

- Les levures et moisissures
- Les germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)

A- Recherche des levures et moisissures

Le contrôle microbiologique a été réalisé dans des conditions d'asepsie sous hotte à flux laminaire et le protocole est celui couramment utilisé par l'entreprise VENUS.

***Protocole**

- Prendre un volume de 10 ml du mélange (produit spécifique + huile essentielle à une dilution spécifique) auxquels sont ajoutés 90 ml de diluant D/E (bouillon neutralisant) servant à la neutralisation des désinfectants (dilution 10^{-1}) ;
- Mélanger l'ensemble pour avoir une suspension homogène ;
- Laisser réagir pendant un temps de contact allons de 20 min à 45 min ;
- Prendre à l'aide d'une seringue stérile à usage unique un inoculum de 2 ml dans deux boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre ;
- Verser 10 à 15 ml de gélose appropriée (SAB : Sabouraud) ;
- Homogénéiser en mouvements circulaires ou en forme de 8 et laisser solidifier ;
- Incuber la boîte correspondante à la gélose SAB à une température de 25°C pendant 5 jours ;
- Un témoin ne contenant que le milieu SAB est inclus.

Tout développement microbien sur le témoin rend le test non valable.

***Lecture**

Les colonies sont comptées à l'aide d'un compteur de colonies, le nombre de colonies par millilitre est égal au nombre de colonies comptées, multiplié par le facteur de dilution correspondant. Le nombre de germes doit être inférieur à 100 UFC/ml ou UFC/g.

B- Recherche des germes aérobies mésophiles totaux (GAMT)

***Protocole**

- Ensemencement d'un volume de 1 ml de chaque solution 10^{-1} préparée précédemment dans des boîtes de Pétri ;
- L'ajout de 10 à 15 ml du milieu PCA (Plat Count Agar) ;
- Dispersion par des mouvements circulaires et en huit ;
- Incubation après solidification à 32°C pendant 3 jours ;
- Un témoin ne contenant que le milieu PCA est inclus.

***Remarque**

Les milieux PCA (pour les bactéries) et SAB (pour les champignons) ont été liquéfiés dans un bain mari à 95°C avant leur utilisation et maintenu en infusion dans une étuve de 45°C ± 5°C.

***Lecture**

Le nombre de colonies se calcule comme précédemment et le nombre de germes doit être inférieur à 1000 UFC/ml ou UFC/g.

Résultats et discussions

II- Résultats et discussions

1- Résultats du rendement en huile essentielle

On a réalisé une série d'extraction des huiles essentielles des espèces *Rosmarinus officinalis* et *Menthapiperata* par la technique d'entraînement à la vapeur d'eau, les moyens des rendements sont illustrés en pourcentage dans le tableau VIII et la figure 11:

Tableau VIII: Les rendements moyens en huiles essentielles des plantes.

Espèce	Rendement en HE (%)
Menthe poivrée (<i>Menthapiperata</i>)	1,53
Romarin (<i>Rosmarinus officinalis</i>)	0,62

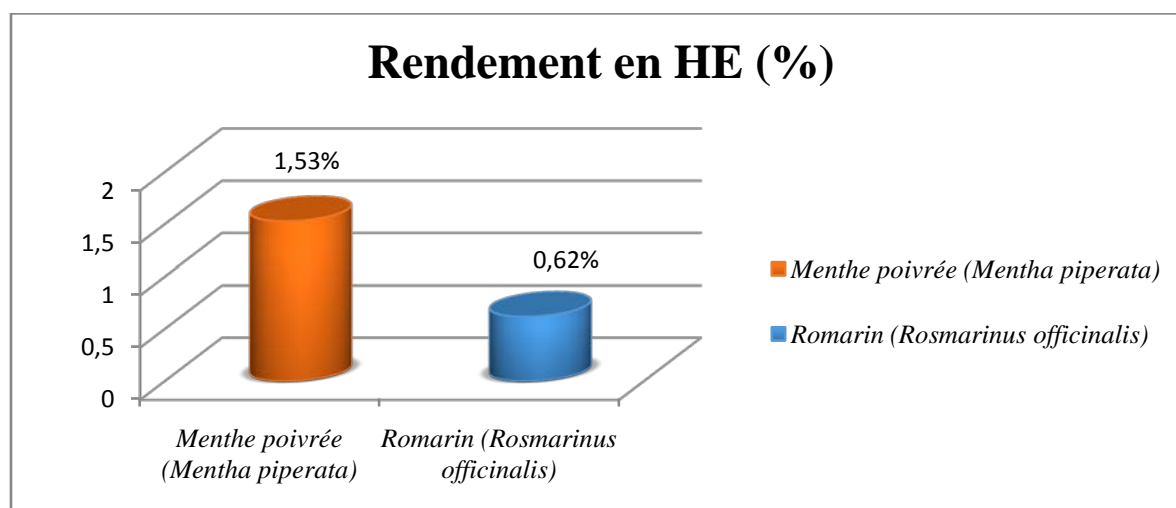


Figure 8 : Les résultats des rendements moyens en huiles essentielles des plantes.

L'entraînement à la vapeur d'eau de la partie aérienne de la plante du romarin a donné le rendement en huile essentielle de 0,62% et l'extraction de l'huile essentielle de la menthe poivrée par la même technique d'extraction a donné le rendement de 1,53% donc, on peut relever que le rendement de la menthe poivrée est supérieur à celui de romarin.

Cette variation du rendement des huiles essentielles peut être attribuée à plusieurs facteurs à savoir l'espèce, le milieu de récolte, la période de récolte, les pratiques culturales.

L'huile essentielle de la menthe poivrée extraite par entraînement à la vapeur a fourni un rendement de 1,53 % qui dépend des facteurs cités précédemment, ce dernier est significatif par rapport aux résultats de **Fertoul et Mahrech (2009)** dans la région de Blida qui ont obtenu un rendement de 1,72 %, et aux résultats de **Hamami et Abdessellem (2004)** dans la région de Ouargla dont le rendement est de 1,83%.

Par contre, le rendement en huile essentielle extraite par entraînement à la vapeur du romarin est de 0,62%, cette valeur se rapproche de celle rapportée par **AtikBekkara et al (2007)** qui

dans une étude effectuée sur les huiles essentielles ont obtenu un rendement d'extraction de 0,6 à 0,8%.

2- Etude analytique des huiles essentielles

2-1. Analyse organoleptique

Le tableau suivant présente les résultats de l'analyse organoleptique effectuée sur les huiles essentielles de *Menthapiperata* et de *Rosmarinusofficinalis*.

Tableau IX: Propriétés organoleptiques des huiles essentielles de *Menthapiperata* et *Rosmarinusofficinalis*.

Huile essentielle	Caractéristiques organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
<i>(Menthapiperata)</i>	Liquide mobile limpide	Presque incolore à jaune claire	Donnant une forte odeurmenthée caractéristique, rappelant l'odeur de la feuille
Normes AFNOR (2000)	Liquide mobile, limpide	Presque incolore à jaune pâle	caractéristique fraîche, plus ou moins mentholée selon l'origine
<i>(Rosmarinusofficinalis)</i>	Liquide mobile limpide	Incolore à jaune pâle	Odeur caractéristique fraîche plus au moins camphrée
Normes AFNOR (2000)	Liquide mobile limpide	Incolore à jaune pâle	Odeur caractéristique cinéolée plus au moins camphrée

Nos résultats sont conformes à ceux rapportés par l'association française de normalisation (AFNOR 2000). Ils sont également en accord avec ceux cités par Bousbia, (2004).

Martini (2006) signale que la plupart des huiles essentielles sont de couleur jaune pâle et parfois incolore, sauf pour les essences à azulène (camomille, matricaire) qui ont une couleur bleue.

2-2. Analyses physicochimiques

A- Le romarin officinal

Les résultats de l'analyse physico-chimique du romarin sont groupés dans le tableau X :

Tableau X : Résultats des analyses physicochimiques de l'huile essentielle du romarin.

L'huile essentielle	Propriétés physicochimiques				
	Densité relative	Indice de réfraction	Indice d'ester	Indice d'acide	Indice de saponification
Romarin	0,901	1,473	4,614	1,14	5,754
Normes AFNOR(2000)	0,895-0,905	1,464-1,470	2-15	<5	/

A-1. Densité relative :

Huile essentielle du romarin présente une densité de 0,901. Cette valeur est conforme à celle donnée par AFNOR (2000).

A-2. Indice de réfraction :

Indice de réfraction des huiles essentielles est généralement élevé. Il est supérieur à celui de l'eau à 20°C qui est de 1,3356. L'indice de réfraction est inversement lié au degré d'insaturation de l'huile (**Gacem et al., 1995**). Plus l'indice de réfraction est faible plus l'huile essentielle est de bonne qualité.

Indice de réfraction de l'huile essentielle du romarin à 20°C est de 1,473, ce qui est conforme aux normes données par AFNOR. Ceci montre sa richesse en composants qui dévient la lumière polarisée.

A-3. Indice d'ester :

Indice d'ester de l'huile essentielle du romarin est de l'ordre de 4,614, ce résultat est conforme à la norme AFNOR qui préconise une valeur de 2 à 15.

A-4. Indice d'acide :

Indice d'acide de l'huile essentielle du romarin est égal à 1,14. La valeur trouvée est conforme à celle rapportée par AFNOR (2002). Cet indice faible prouve que l'huile essentielle est stable et ne provoque pas d'oxydation inquiétante. Car, l'huile, en s'oxydant, se dégrade rapidement et provoque une augmentation de l'indice d'acide.

A-5. Indice de saponification :

Indice de saponification de l'huile essentielle du romarin est de 5,754, ce qui implique qu'elle contient une faible quantité d'acides gras à faible poids moléculaire. L'indice de saponification rend compte de la longueur des chaînes hydrocarbonées des acides gras (plus le poids moléculaire est élevé plus l'indice de saponification est faible)(Bruni et al.,1994).

B- La menthe poivrée

Les résultats de l'analyse physicochimique de *Menthapiperata* sont présentés dans le tableau suivant :

TableauXI : Résultats des analyses physicochimiques de l'huile essentielle de *Menthapiperata*.

Propriétés physicochimiques					
L'huile essentielle	Densité relative	Indice de réfraction	Indice d'ester	Indice d'acide	Indice de saponification
Menthe poivrée	0,910	1,41	167,08	1,23	168,31
Normes AFNOR(2000)	0,901-0,916	1,457-1,467	135-200	<1,5	/

Les résultats des indices physico-chimiques de l'huile essentielle de la menthe poivrée comparés à ceux de l'**AFNOR (2000)**, indiquant que notre huile essentielle est de bonne qualité et conforme à la norme.

3- Etude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles

Les résultats de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles du romarin et de la menthe poivrée obtenus par la mesure des diamètres d'inhibition sont rapportés dans le tableau XII et la figure 12 (A et B).

L'Aromatogramme a révélé une bonne activité inhibitrice des huiles essentielles sur la croissance des bactéries.

Tableau XII :
Résultats de
l'activité
antibactérienne
des huiles
essentielles

Huile essentielle Germes	Diamètre d'inhibition de l'huile essentielle de (<i>Menthapiperata</i>) (mm)	Diamètre d'inhibition de l'huile essentielle de (<i>Rosmarinusofficinalis</i>) (mm)
<i>Escherichia coli</i>	26	17
<i>Enterococcusfaecium</i>	25	15
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21	17
<i>Klepsiellapneumoniae</i>	20	16
<i>Proteusmirubilis</i>	18	14
<i>Strptococussp</i>	18	18

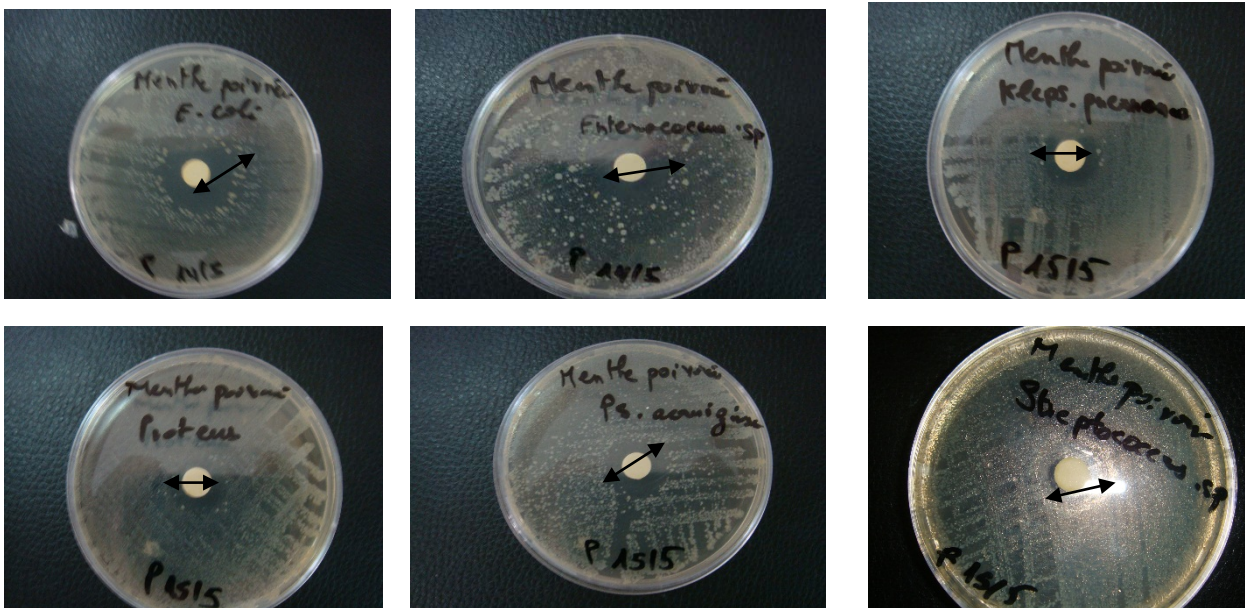


Figure9-A : Action de l'huile essentielle de (*Menthapiperata*) sur les germes testés.

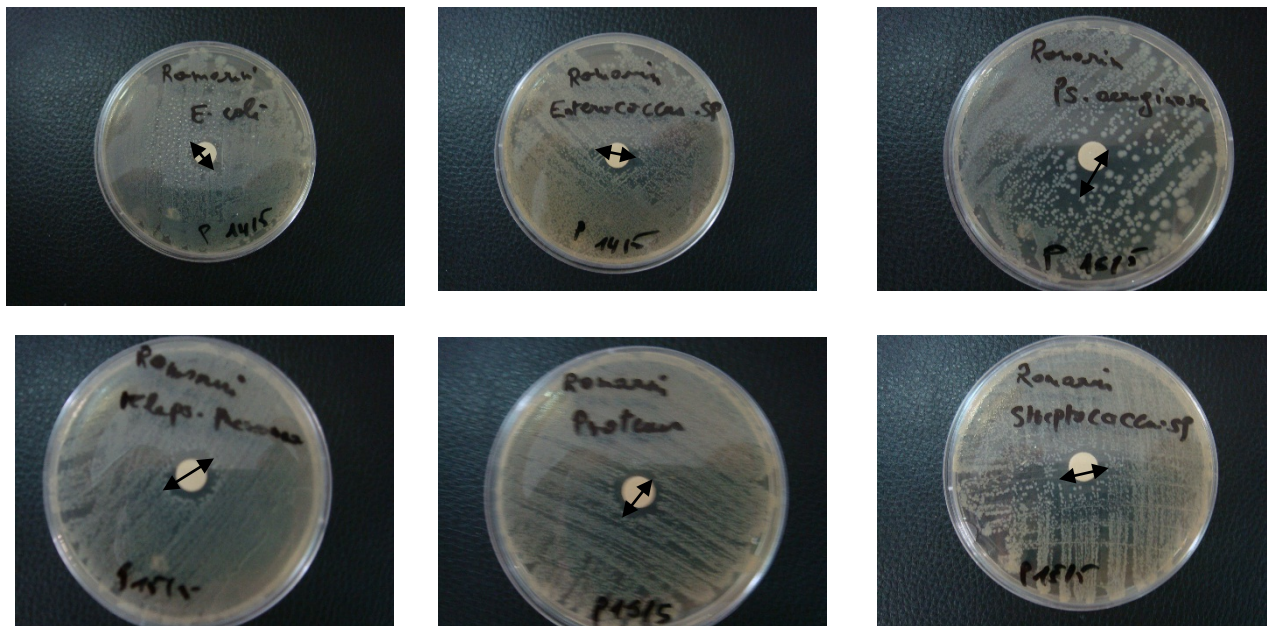


Figure 9-B : Action de l'huile essentielle de (*Rosmarinusofficinalis*) sur les germes testés.

Une échelle de mesure de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles a été établie par **Meena et Sethi (1994)** et **Ela et al. (1996)** dans laquelle les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne sont hiérarchisés en quatre classes :

- Fortement inhibitrice lorsque $d \geq 28$ mm de la zone d'inhibition.
- Modérément inhibitrice lorsque $28 \text{ mm} > d > 16$ mm de la zone d'inhibition.
- Légèrement inhibitrice lorsque $16 \text{ mm} > d > 10$ mm de la zone d'inhibition.
- Non inhibitrice lorsque $d < 10$ mm de la zone d'inhibition.

A partir de cela, on a pu constater que l'huile essentielle du romarin a été légèrement inhibitrice sur *Enterococcusfaecium* et *Proteusmirabilis* et modérément inhibitrice sur *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klepsiellapneumoniae* et *Streptococcus* sp.

Par contre, l'huile essentielle de la menthe poivrée a un effet modérément inhibiteur sur toutes les espèces bactériennes mentionnées. L'activité inhibitrice de la menthe poivrée est supérieure à celle du romarin. Donc, l'huile essentielle de la menthe poivrée possède une activité antibactérienne supérieure à celle du romarin.

4- Le contrôle de l'effet conservateur des deux huiles essentielles sur les deux produits cosmétiques

4-1. étude de la stabilité des huiles essentielles sur les produits cosmétiques

4-1-1. Contrôle microbiologique

Les graphes suivants montrent les résultats du contrôle microbiologique effectué sur les deux produits cosmétiques durant une période d'un mois.

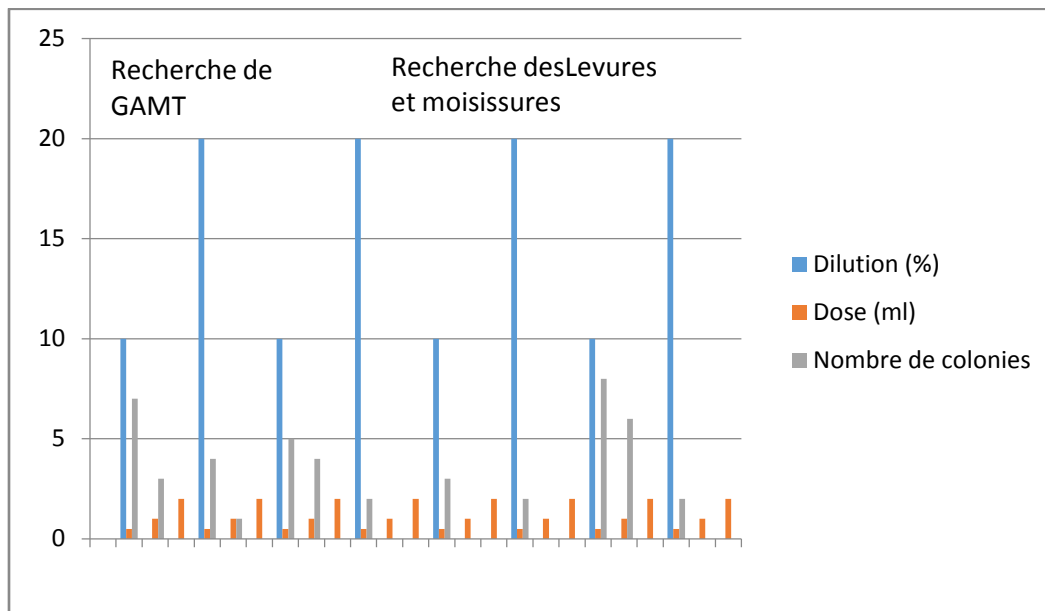


Figure 10 : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 24heures.

La figure 10 représentent les résultats du contrôle microbiologique effectué sur le démêlent après 24 heures après avoir incorporé les deux huiles essentielles en tant que conservateurs à des dilutions et des doses progressives.

La recherche des GAMT :

Une dose de 1ml pour les deux huiles essentielles diluées à 10% est suffisante pour l'inhibition d'une croissance bactérienne.

La recherche des levures et moisissures :

Une dose de 2 ml pour les deux huiles essentielles diluées à 10% se sont montrées efficaces et l'incorporation d'une dose de 2 ml pour une des deux huiles essentielles diluées à 20% est suffisante comme conservateur dans le démêlent.

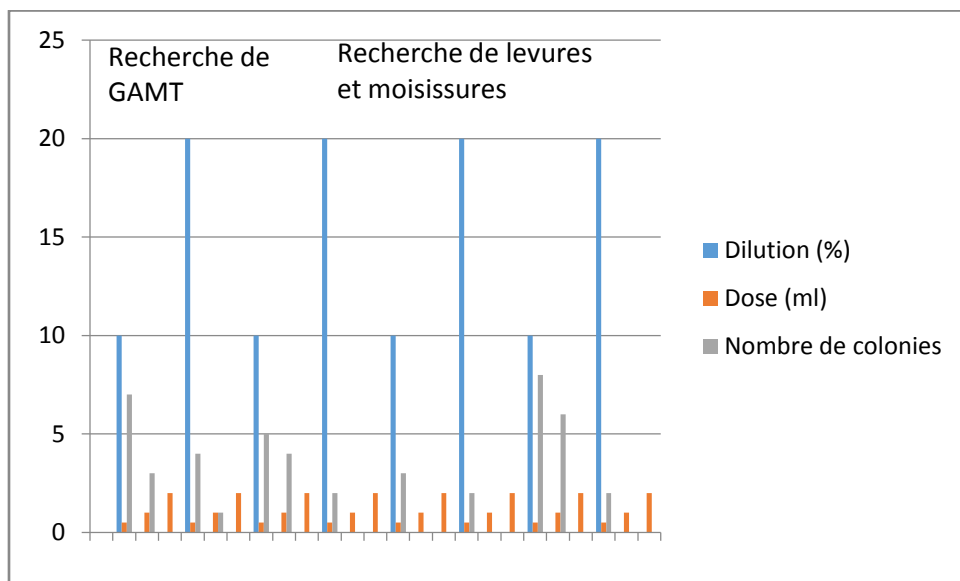


Figure 11 : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 7 jours.

La figure 11 représentent les résultats du contrôle microbiologique effectué sur l'après shampoing après 7 jours.

Recherche de GAMT :

L'huile essentielle du romarin diluée à 10 et 20% a pu inhiber la croissance des GAMT à une dose de 2 ml. Par contre, l'huile essentielle de la menthe poivrée diluée à 20% est montrée efficace à une dose de 1 ml.

Recherche des levures et moisissures :

L'huile essentielle du romarin diluée à 10 et 20% devient puissante de neutraliser les levures et moisissures à une dose de 1 ml.

Une dose de 2 ml de la menthe poivrée diluée à 10% a été efficace et une dose de 1ml de cette même huile essentielle diluée à 20% a été suffisante pour inhiber le développement des levures et moisissures.

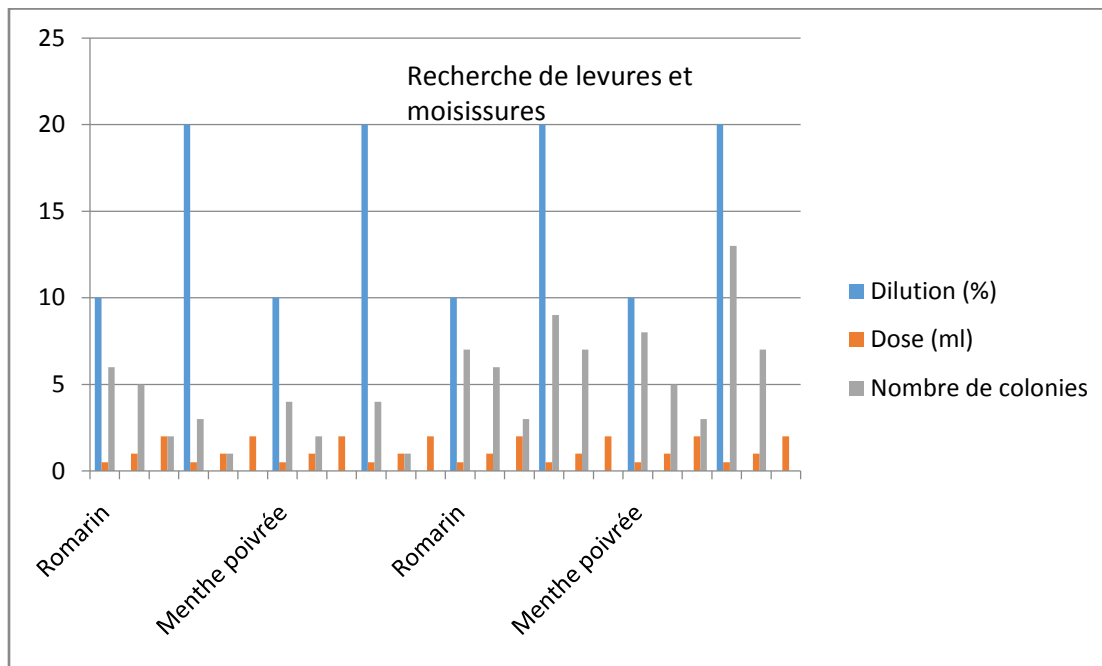


Figure 12 : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 30 jours.

La figure 12 représente les résultats du contrôle microbiologique effectué sur l'après shampoing après 30 jours.

Recherche de GAMT :

L'incorporation d'une dose de 2 ml de l'huile essentielle du romarin diluée à 20% dans le produit cosmétique spécifique a donné un résultat positif et l'huile essentielle de la menthe poivrée a présenté un résultat similaire à une dose de 2 ml pour les deux dilutions (10 et 20%).

Recherche des levures et moisissures :

Les deux huiles essentielles diluées à 20% ont été efficaces à une dose de 2 ml.

A partir de ces résultats, on peut déduire que l'huile essentielle de la menthe poivrée a été plus efficace que l'huile essentielle du romarin comme conservateur dans l'après shampoing.

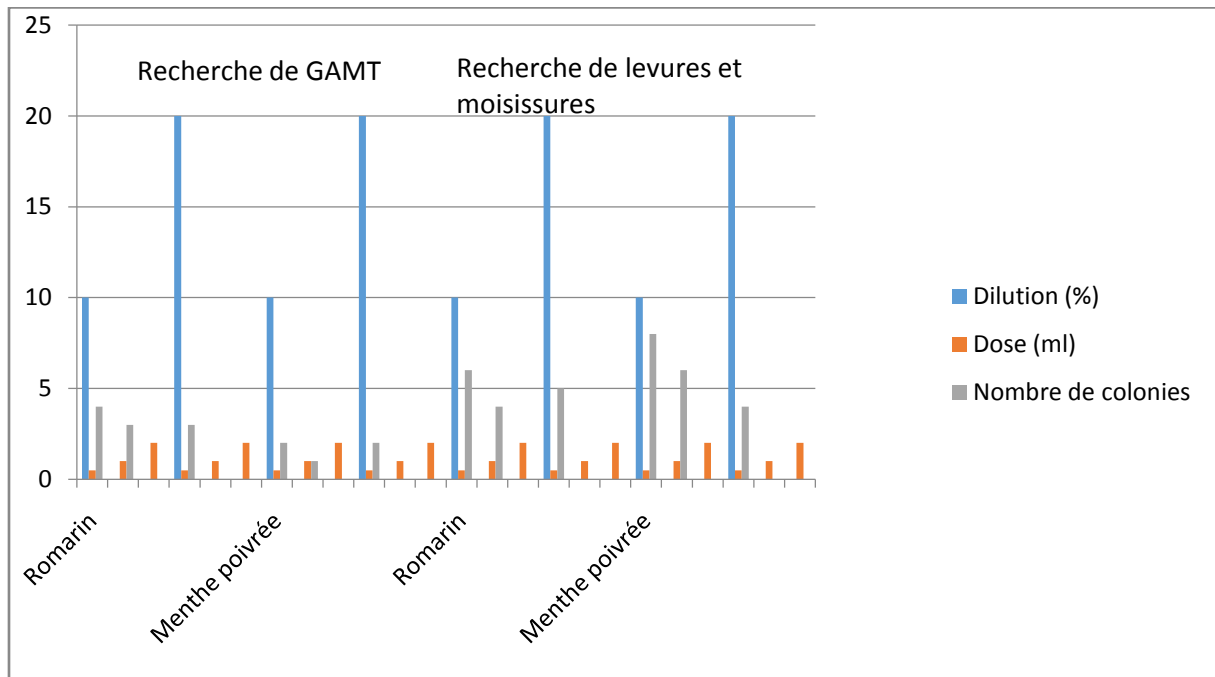


Figure 13 : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 24 heures

La figure 13 représente les résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après avoir incorporé les deux huiles essentielles en tant que conservateurs à des dilutions et des doses progressives.

Ces résultats indiquent que l'incorporation d'une dose de 2 ml de l'une des deux huiles essentielles diluée à 20% a toujours conduit à une inhibition d'une croissance bactérienne ou fongique. Ceci confirme que les deux huiles essentielles sont efficaces en tant que conservateurs pour la crème solaire.

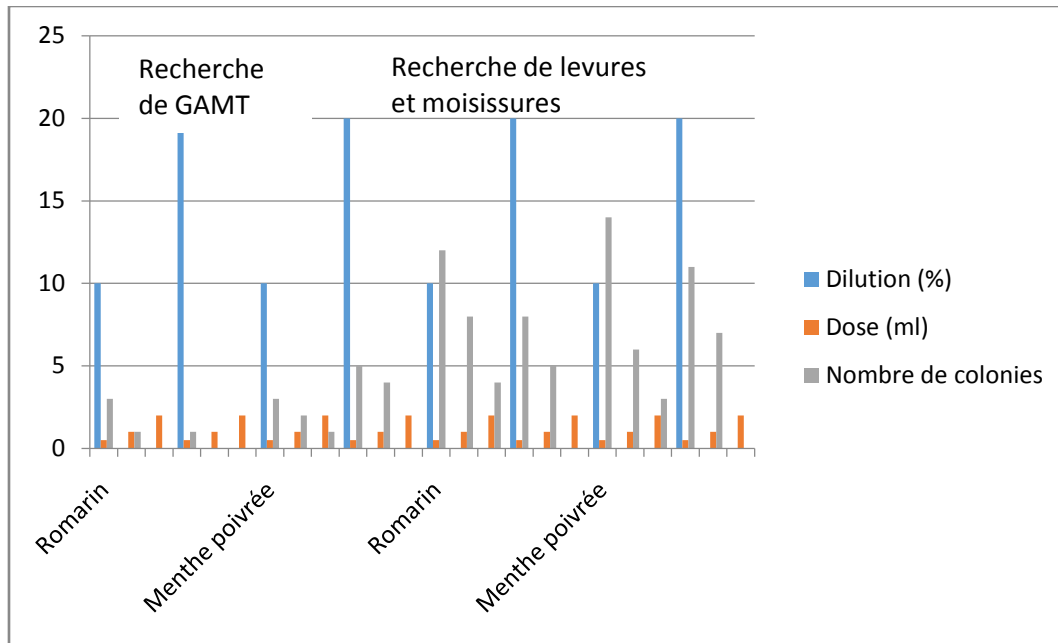


Figure 14 : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 7 jours.

La figure 14 représente les résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 7 jours.

Recherche de GAMT :

-2 ml de l'huile essentielle diluée à 10% a été efficace pour la neutralisation des GAMT.

-1 ml de l'huile essentielle diluée à 20% a été efficace pour la neutralisation des GAMT.

- l'huile essentielle de la menthe poivrée diluée à 20% n'a pas donné un résultat positif jusqu'à une dose de 2 ml.

Recherche des levures et moisissures :

Pour les deux huiles essentielles, la dilution et la dose qui ont été efficaces comme conservateur dans la crème solaire sont respectivement 20% et 2 ml.

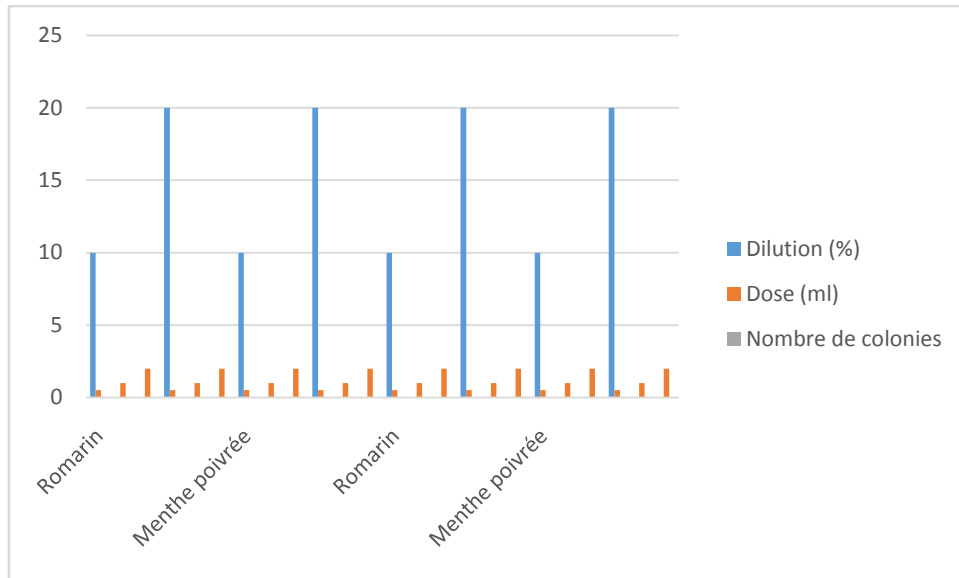


Figure 15 : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 30 jours.

La figure 15 représente les résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 30 jours.

Les résultats montrent une absence totale de colonies pour toutes les doses et les dilutions utilisées. Ceci confirme qu'une dose de 0,5 ml de l'huile essentielle (romarin ou menthe poivrée) diluée à 10% peut remplacer le parabène dans la crème solaire IP60.

A partir de cela, on peut déduire que les deux huiles essentielles ont été efficaces comme conservateurs dans la crème solaire IP 60.

Nos résultats sont conformes à la **NA 8287** pour GAMT et la **NA 8285** pour les levures et moisissures. C'est-à-dire, plus on augmente le pourcentage de la dilution de l'huile essentielle incorporée en tant que conservateur dans les produits cosmétiques utilisés ; plus on aura une meilleure inhibition de la croissance bactérienne et fongique et cela est traduit par la diminution du nombre de colonies présentes.

***Remarque :** le nombre de colonies est inversement proportionnel au pourcentage de la dilution de l'huile essentielle appropriée.

Conclusion

Conclusion

Dans le but de vérifier l'effet conservateur des huiles essentielles dans les produits de beauté, nous avons mené une étude qui consistait à l'extraction de deux huiles essentielles à partir du romarin et de la menthe poivrée, de déterminer la qualité de ces huiles par une analyse physicochimique, de les diluer et de les incorporer dans deux produits cosmétiques (un après shampoing et une crème solaire) afin d'apprécier leur efficacité en tant que conservateurs en cosmétique.

Bien que notre échantillonnage ne soit pas représentatif et que les analyses n'aient pas porté sur la totalité des critères, les résultats obtenus au terme de ce travail révèlent que :

Les valeurs moyennes des rendements en huile essentielle de romarin et de la menthe poivrée (à l'échelle laboratoire) extraites par entraînement à la vapeur d'eau sont respectivement 0,62% et 1,53%. Ceci implique que les espèces *Rosmarinus officinalis* et *Mentha piperata* cultivées dans la région de Blida présentent un bon rendement.

Les résultats des analyses physicochimiques (densité, indice d'acide, indice de réfraction, indice d'ester et indice de saponification) sont conformes aux normes. Ceci reflète la bonne qualité physicochimique analysée des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Mentha piperata*.

Les résultats de l'étude de l'activité antimicrobienne des huiles essentielles sur les germes (*Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Streptococcus sp*) indiquent que l'huile essentielle du romarin a montré une activité inhibitrice légère vis-à-vis de *Enterococcus faecium* et *Proteus mirabilis* et une activité inhibitrice modérée vis-à-vis de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Streptococcus sp*. Par contre l'huile essentielle de la menthe poivrée présentait une activité inhibitrice modérée vis à vis de ces germes. Ceci indique que l'huile essentielle de la menthe poivrée présente une activité inhibitrice beaucoup plus importante que celle du romarin.

L'étude de la stabilité qui a consisté en l'incorporation des huiles essentielles dans les produits cosmétiques a révélé sur le plan microbiologique que les résultats sont conformes aux Normes Algériennes et que les huiles essentielles analysées présentent une bonne conservation du produit et plus précisément, l'incorporation d'une dose de 2ml d'huile essentielle diluée à 20% (romarin ou menthe poivrée) dans le produit cosmétique (après

shampooing ou crème solaire) a toujours conféré une bonne neutralisation des germes aérobies mésophiles totaux et des levures et moisissures.

Au vu des résultats obtenus, il semble que les huiles essentielles du romarin et de la menthe poivrée peuvent remplacer le parabène dans la crème solaire IP60 et le formaldéhyde dans l'après shampooing comme conservateurs en cosmétologie, d'autant qu'en terme d'activité microbienne, les quatre conservateurs présentent les mêmes caractéristiques, mais sans nocivité des conservateurs chimiques.

En perspective, afin de confirmer l'effet conservateur de l'huile essentielle du romarin et de la menthe poivrée, il serait judicieux de les tester sur une gamme plus large de produits cosmétiques ; par ailleurs, l'étude des autres critères en amont du choix d'un conservateur permettra peut-être de donner des arguments plus à même d'opter pour ces huiles essentielles dans les produits cosmétiques.

Références bibliographiques

- **AFNOR. (2000).** « les huiles essentielles. Monographies relatives aux huiles essentielles ».Ed. PARA Graphic, 2(1) :p323.
- **AFNOR. (2000)-**Recueil des normes Françaises « huiles essentielles ».AFNOR, Paris. AFNOR NF T 75-006.p202.
- **Afsset-Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. (2007).** « Valeurs guides de qualité d'air intérieur, Le formaldéhyde ».
- **Afsset-Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail. (2008).** « Risques sanitaires liés à la présence de formaldéhyde ».
- **Aristide Q. (1964).** « Encyclopédie du monde végétale histoire de la botanique : la botanique dans l'antiquité ». Tome I, Boulevard Saunt-Germain Paris VIe, Ed Lidis. 102, Champs-elysées, Paris ; d'après l'édition originale Naturaviva par Vallardi Edizioni Periodich, p132-138.
- **AtikBekkara F., Bousmaha L., Taleb Bendiab S.A., Boti J.B et Casanova J.(2007).** « composition chimique de l'huile essentielle de *Romarinus officinalis.L* poussant à l'état spontané et utilisé de la région de Tlemcen ».Ed. LANORE. p244-245.
- **Avenel-aubran M. (2008).** « Progrés en dermato-allergologie ».Ed. JhonlibbeyEurotext, Paris, p 116-127.
- **Bakkali F.,Averbeck S., Averbeck D., et Idaomar M.(2008).** «Biological effects of essential oils».Food and chemical toxicology .Rev,**46**,446-475.
- **Bardeau F.(2009).** « les huiles essentielles, découvrir les bienfaits e les vertus d'une médecine ancestrale » .Ed . lanore ;p244-245.
- **Bauman L. (2009).** «Cosmetics dermatology principales and practis». 2^{eme} Ed Copyright, p31.

- **Beani J-C., Cadet J., Corre M-F., Frelon J-H., Grob J-J., Jean Mougin M., Land G., Martini-Morel M-C., Meunier L., Marty J-P., Revuz J., Reynier J-P., Roelands R., Stoebner A., et vian L.(2006).** «protection solaire : recommandation concernant les conditions d'étiquetage des produits de protection solaire .RUV médecine générale ».
- **Beloued A. (2001).** « Les plantes médicinales d'Algérie ». Ed. Offices des publications universitaires. Alger .P 277.
- **Benayad N.(2008).** Thèse sur: « les huiles essentielles extraite par plantes médicinales marocaine : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées », Université Mohammed V– Agdal de Rabat.
- **Blogger M(2013).** « Analysons la formule type d'un après- shampoing »
 -
- **Bonnevalle A-B., et Thomas P. (2008).** «Evaluation des filtres et écrans solaires . cosmétologie et dermatologie esthétique » . Paris .Ed : EMC (Elsevier MASSON SAS), p50-200-A-10.
- **Bouhanna P., Reygagne P.(1999).** « Pathologie du cheveu et du cuir chevelu. Traité médico-chirurgical et cosmétologique ». Ed. Elsevier Paris, p340.
- **Boullard., Boudjmaa N., et Ben guegua H.(2010).** «L'effet antibactérien de NigellaSativa ». Université KasdiMerbah Ouargla.
- **Bousbia N. (2004).** « extraction et identification de quelques huiles essentielles, étude de leurs activités antibactériennes ». these de magistère. option Science Alimentaires, INA. Algérie .130p.
- **Bardeau F.(1976).**la médecine par les fleurs. Ed : laffont.p335.
- **Bardeau F.(2009).** « les huiles essentielles, découvrir les bienfaits e les vertus d'une médecine ancestrale » .Ed . lanore ;p244-245.
- **Branger J.(2004).** Cahier de charge-maitrise IUP GEPI.www.Univ-Ir.fr
- **Bruneton J.(1993).** «Phamacognosie et phytochimie, plantes médicinales ».Ed .Tec et Doc, Lavoisier,paris.p915.
- **Bruni U., Cortesi N., Fiorino P. (1994).** « influence des techniques culturales, des cultivars et des zones d'origine sur les caracteres de l'huile d'olive vierge et les niveaux de certains de ces composants (mineurs) ».Rev.*Olivae*,53,p 28-34.

- **Cashman A-L., et Warshaw E-M. (2005).** «parabens, structure allergenicity and hormonal properties». *Dermatitis, A review of epidemiology*, p57, 66.
- **CIRC- Centre International de Recherche sur le Cancer. (2004).** Monographs on the evaluation on carcinogenic risks to humans. Summary of data reported and evaluation Formaldehyde.
- **Delille L. (2007).** «les plantes médicinales d'Algérie ». Édition BERTI. Alger, p122.
- **Ela M.A., El-Shaer N.S., et Ghanem N.B. (1996).** « antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils». Vol.51. *pharmazie* .p 993-995
- **Estrade M.N. (2001).** «conseils en cosmétologie ».Ed. Pro-officina, 291p.
- **Fabrocini. (1999).** «Les huiles essentielles qui soulagent vos douleurs. Les huiles Essentielles et les soins de la peau ». Ed. Mortgne.
- **Festy D(2007).** «Ma bible des huiles essentielles ».Ed :leducseditions ;p17,230 .
- **Fouche J.G., Marquet A.,Hambuckers A.(2000).** «les plantes médicinales , de la plante au médicament ».observation du monde des plantes Sart-Tilman.
- **Fournier P.(1948).** « Le livre des plantes médicinales et vénéneuses de France : 15000 espèces ». Tome III, Paris, p803-810.
- **Frimat P ., et Cleenerverck M-B.(2004).** «progrès en dermato-allergologie ». Ed John LibbeyEurotext, lille, p23.
- **Gacem D., Cherif D., Mekhtoui K. (1995).** « evaluation de la qualité de l'huile d'olive à travers la wilaya de tizi-ouzou. ».thèse de Magistère en biochimie appliquée et biotechnologie de tizi-ouzou.
- **Goyer N., Bégin D., Beaudry C., Lavoué J.,Noisel N., et Gérin M.(2006).** «Guide de prévention : le formaldéhyde en milieu de travail ». IRSST, Rapport RG-471. <http://www.irsst.qc.ca/files/documents/PubIRSST/RG-471.pdf>
- **Guignard J.L. (1999).** « Botanique, Systématique moléculaire ». Ed .Masson, p290.

- **Hammiche V. (1995).** «Morphologie et systématique botanique ». INESSM Alger, Office des publications universitaires ; p 166.
- **Hemwimon S., Pavasant P., et Shotiprux A.(2007).** «Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of Marinda Citrofolia Separation and purification Technology». p44-50.
- **Heinrich M., Kufer J., Leonti M., Pardo-de-Santayana M. (2006).** «Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. J Ethnopharmacol».p 157-160.
- **Hernandez-Ochoa L.R. (2005).** « Substitution de solvants de matières actives de synthèse par combiné « Solvant /Actif », d'origine végétale ». Thèse de doctorat de l'institut national polytechnique de Toulouse .France.
- **Il Edrissi A. (1982).** Thèse de troisième cycle: « Etude des huiles essentielles de quelques Espèces Salvia, Lavandula et Mentha du Maroc ». Faculté des Sciences de Rabat,Maroc, ,p18-22.
- **INERIS. (2005).** « Fiches de données toxicologiques et environnementales des substances dangereuses destinées à l'évaluation des risques, FORMALDEHYDE ».
- **INRS-Institut National de la Recherche et de la Sécurité. (2006).** « Fiche toxicologique. Aldéhyde formique et solutions aqueuses. ».p 6.
- **Iserin P., Masson M., et Restellini J P. (2007).** « Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins » .Ed. Larousse, p14.
- **Jahandiez E.,et Marie R .(1934).** «Catalogues des plantes du Maroc, Spermatophytes et ptérydophytes ». Tome III, P. Le chevalier, librairie 12, rue de Tournon VIe, Alger-Paris, p42.
- **Kebbab S ; Fekir R (2004).** «Etude de la composition chimique des essences de quatre espèce de romarin poussant dans la region de tizi ouzou ».thèse de doctorat en chimie appliquée .Université de Mouloud Mameri, Faculté des sciences.
- **Le hir A. (1998).** «Pharmacie galénique : bonne pratique ». Ed. MASSON, paris, p 1-9.
- **Lim H-W., et Draelos Z-D. (2009).** «Clinical guide to sunscreens and photo protection». Inermahealthcare, New York, p 39.

- **Lucchesi S.M. (2005)** . «Extraction sans solvant assistée par micro-ondes conception et application à l'extraction des huiles essentielles ». Thèse de doctorat en sciences, discipline : Chimie. Université de la Réunion ,Faculté des sciences et Technologie.
- **Martini M-C., et Seiller M. (2006)**. «Actifs et additifs en cosmétologie ».2^{ème} Ed TEC &DOC Lavoisier, Paris, p 764-767.
- **Martini M-C. (2006)**. «Introduction à la dermopharmacie et à la cosmétologie ». 2^{ème}Ed TEC&DOC, p 132, 135,143.
- **Martini M-C. (2008a)**. «BTS esthétique cosmétique » .2^{ème}Ed, Elsevier MASSON SAS, p 28-29.
- **Martini M-C. (2008b)**. «Conservateurs .cosmétologie et dermatologie esthétique » .paris : EMC (Elsevier ASSON SAS) .p50-120-D-10.
- **Mautrait C., et Raoult R. (2009)**. «la préparation : mode d'emploi ». 2^{ème} Ed prophyse, France, p 136.
- **Meena M.R.,Sethi V.(1994)**. « Antimicrobial activity of the essential oils fromspices».Vol.31, J .Food Sci. and Tech. Mysore., 68-70.
- **Mességué M. (1983)**. « Mon herbier de santé ». Ed :Robert laffont.paris. p333 .
- **Meyer.A.,Deiana.J .,et Bernard.A.(2004)**. «cours de microbiologie générale : avec problèmes et exercices corrigés » .Ed. Doins Editeurs ;p240.
- **Moro Bronzo A. (2008)**. «grand guide des huiles essentielles : santé, beauté, bien-etre » .Ed. Hachette .p4-56-61-71-197-232.
- **Moyese H. (1971)**. «Matière médicale ». TOME 2.Ed. Masson : p 274.
- **Norber J.(1983)**. « Epices et plantes aromatique » .Ed. Matier. paris .p 90.
- **Peyrefitte G. (1995)**. « Biologie de la peau : cahier d'esthétique cosmétique ». 2^{ème} Ed. paris, p71-74.

- **Pibiri M. C. (2006).** «Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen d'huiles essentielles». Thèse de doctorat, Ecole polytechnique fédérale, lausanne. p161.
- **Pillon F., Allaert F. (2011).** «rôle de la complémentation orale pour lutter contre la chute de cheveux ».Rev. Actualités pharmaceutiques, n°509, p39-40.
- **Piochon M. (2008).** «Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore laurentienne : composition chimique, activités pharmacologiques et héli-synthèse ». Mémoire, Université du Québec à Chicoutimi, Canada.
- **Roelandts R. (2005).** «la protection solaire locale : développement actuels ».Ed Louvain médicale.
- **Roquebert M-F. (2002).** «Les contaminants biologiques des biens culturels ».Ed Elsevier SAS, paris, p 233-238.
- **Rota R.M., Herrera A., Martinez R.M., Sotomayor J.A., Jordan M.J. (2008).** Antimicrobial activity and chemical composition of *Thymus vulgaris*, *Thymus zygis*, and *thymus hyemalis* essential oils .Ed: Food Control19.p681-687.
- **Roux. D et Cartier. O (2007).** «Botanique, pharmacognosie phytothérapie ».Ed : Walters Kluwer ; p82.
- **Roux .(2008).** «botanique pharmacognosie Phytothérapie »,3^{eme} Ed, Porphyte, France.
- **Sallé J.L. (2004).** «les huiles essentielles : synthèse d'aromathérapie ».Ed : Frison-Roche ; p 13,15, 52, 191.
- **Santé Canada. (1999).** « Loi Canadienne sur la Protection de l'Environnement Liste des substances d'intérêt prioritaire, rapport d'évaluation » : formaldéhyde. En40-215/61F. Ministère des Travaux Publics et des Services Gouvernementaux. p123.
- **Schéma des différentes couches du cuir chevelu** <http://www.sebamed.fr:4-cuir-chevelu-et-cheveux.html> .
- Schéma de tige pileaire site internet du Dr SARFATI H. <http://www.docteur-safati.com/index.html>.
- **Seguin E., Gheston A., et Overchioni.(2001).** « le préparateur en pharmacie: botanique-pharmacognosie- phytothérapie- homéopathie ».Ed. Tec et Doc, Lavoisier, Paris ,p143-146 .

- **Smallfield B. (2001).** «Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes». Rev. Corp and Food Research, Number45, p4.
- **Soni M-G., carabin I-G., et Burdock G-A. (2005).** «Safety assessment of ester p-hydroxy benzoic acid (paraben) ». Rev. Food and chemical toxicology 43, p 1015.
- **Stiller A, (2008).** « L'encyclopédie médicale, le Manuel de Merk». Ed. MASSON, p 1232-1233.
- **Svoboda K.P., et Hamson J.B. (1999).** «Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants»: antibacterial,antioxydants, anti-inflallatory and other related pharmacological activities. Plant biology department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, U.K; KA6 5HW.
- **Teuscher E., Anton R., Lobstein A(2005).** « Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et leurs huiles essentielles ».Ed. Tec et Doc éditions, Paris.
- **Vautrin D. (2005).** « Une peau zéro défaut, guide pratique des soins cosmétiques aux aliments beauté ». Alpen Ed. s.a.m. Amazon France. p 11-12.
- **Vernon F., et Richard H.(1976).** « Quelques épices et aromates et leurs huiles essentielles ». Centre de documentation internationale des industries utilisatrices de produits agricole(C.D.I.P.A).2 : p151-157.
- **Zhiri A.(2006).** Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré.Nutra News. Science, Nutrition ,Prévention et santé .Edité par la fondation pour le libre choix.12,p8.

Annexes

Annexe 1

1- Le matériel utilisé lors de l'extraction par entraînement à la vapeur

- **Appareillage**

- Balance de précision.

- Etuve

- Chauffe ballon.

- **Verrerie**

- Papier aluminium.

- Pipettes graduées.

- Tubes à essai en verre.

- Spatule.

- Réfrigérant à reflux.

- Ampoule à décanter.

- Flacons.

- Burette

- Béchers.

- Pipette pasteur.

- Ballon.

- Fioles.

- Portoir pour tubes.

- Entonnoir.

- Etiquettes.

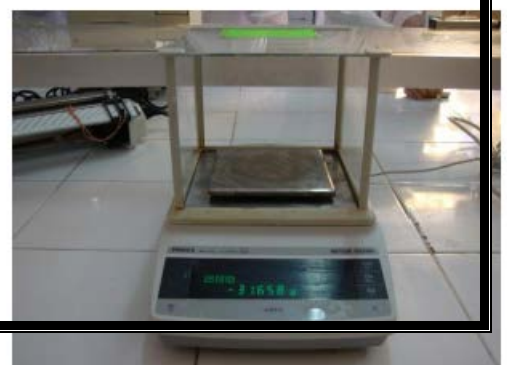
- Erlenmeyer.
- Pierre de ponce.

3-Réactifs et préparations

- Eau distillée
- Ether di-éthylique
- Solution de potasse 0.1 N
- Solution éthanolique d'hydroxyde de potassium
- Phénophtaléine
- Acide chlorhydrique
- KOH / - Ethanol.



Le montage de l'entraînement à la vapeur d'eau.





Entrainement à la vapeur de la matière végétale



Décantation



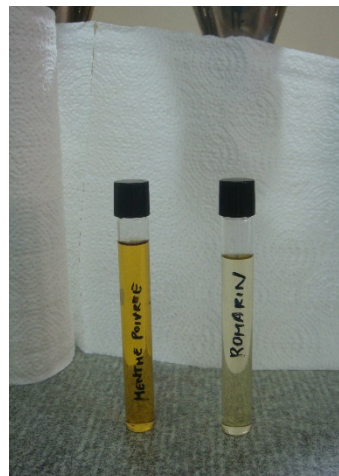
Séparation liquide-liquide



Le distillat obtenu



Évaporation de l'éther diéthylique



Les huiles essentielles du romarin et de la menthe poivrée obtenues

Annexe 2

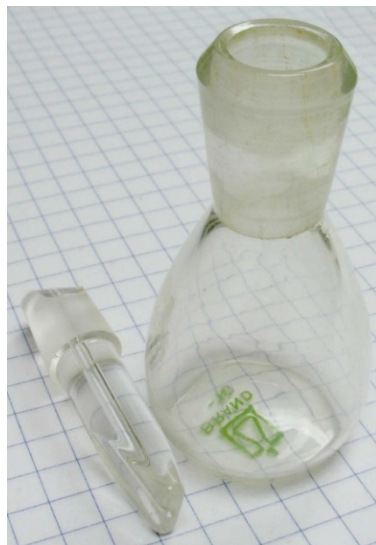
Analyse physicochimique des huiles essentielles

Détermination de l'indice d'acide



La solution à neutraliser

Neutralisation d
solution avec de



L'apparition de la coloration
l'hydroxyde rose persistante

Pycno

Détermination de l'indice d'ester



L'hydrolyse des esters
par chauffage

Le titrage de l'ex
de potassium avec
d'acide chlorhyd



L'apparition de la coloration
jaune persistante.



La solution

Indice de réfraction

- **Appareillage**

Réfractomètre (de type Abbe) susceptible de déterminer l'indice de réfraction à $\pm 0,0001$.

Lame de verre d'indice de réfraction connu.

Bain d'eau, contrôlé thermo statiquement, avec une pompe de circulation et susceptible de maintenir la température à $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$

Thermomètre.



Réfractomètre

Indice de saponification

- **Appareillage**

Fiole conique, de capacité 250 ml, en verre résistant aux alcalis, à col rodé.

Réfrigérant à reflux, avec rodage en verre adaptable à la fiole conique.

Dispositif de chauffage : plaque électrique chauffante.

Burette de capacité 25 ml, graduée en 0,1 ml.

Pipette de capacité 25 ml.

Balance analytique de précision 0,001 g.

- **Réactifs**

Hydroxyde de potassium, solution] KOH] = 0,5 mol/l dans l'éthanol à 95%.

Acide chlorhydrique, solution titrée, [HCl] = 0,5 mol/l.

Phénolphthaléine, solution à 0,1 g/100 ml dans l'éthanol à 95% (fraction volumique).

Régularisateurs d'ébullition.

Densité relative à 20°C

- **Appareillage**

Pycnomètre ; en verre, de capacité minimale de 5 ml.

Bain thermostatique, maintenu à la température de $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

Balance analytique de précision 0,001 g.

Annexe 3

Matériel utilisé pour l'étude du pouvoir antimicrobienne et pour le contrôle microbiologique

- **Appareillage**

Autoclave.

Méga bec benzène.

Etuves.

Réfrigérateur

Balance analytique.

Compteur de colonies.

Poste de sécurité microbiologique (PSM) de type II (Hotte à flux laminaire).

Agitateur.



La hotte physicochimie

Bain marie

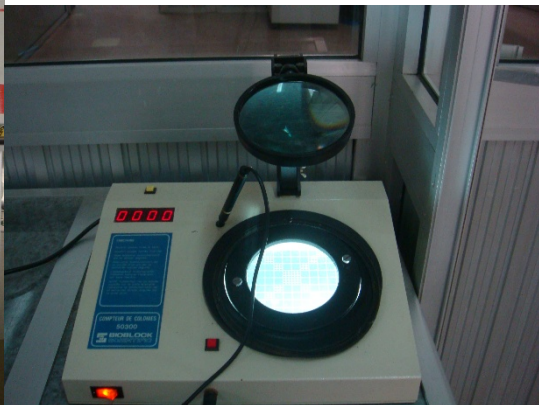


Etuve thermostatée

Etuve à 37°C



La hotte à flux laminaire



Compteur de colonie



Autoclave

- **Verrerie et instruments**

Boite de Pétri.

Disques en papier Whatman n°03.

Anse de platine.

Pince stérile.

Pipettes Pasteur.

Ecouvillons.

Tube à essai.

Micro-seringues.

- **Consommables**

Milieu gélosé (MH).

Milieu gélosé (SAB).

Milieu gélosé (PCA).

Bouillon nutritif.

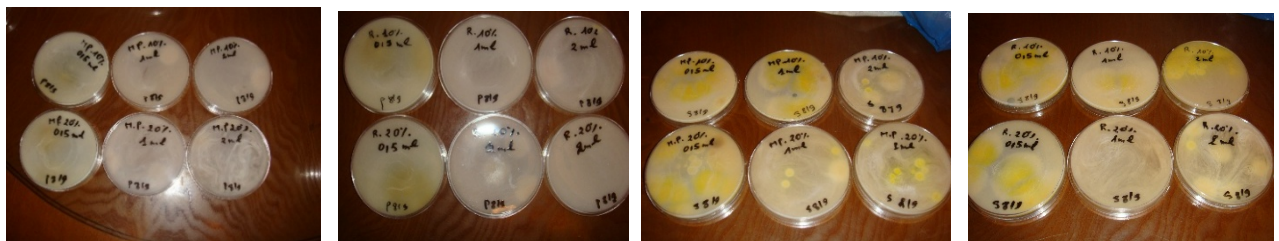
Bouillon de neutralisation D/E.

Tween 80.

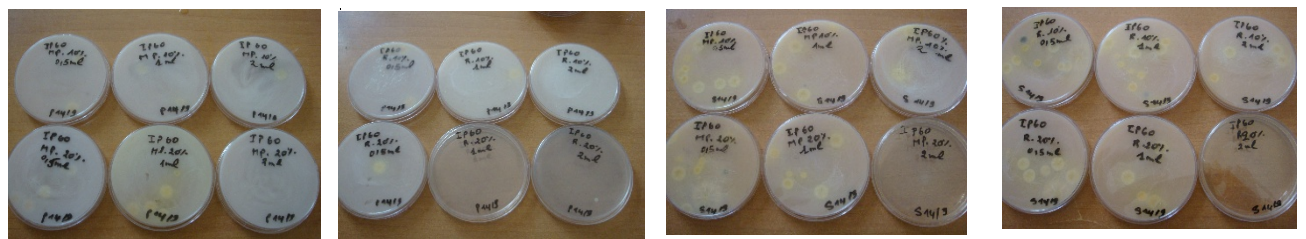
Eau physiologique.

Les résultats du contrôle microbiologique

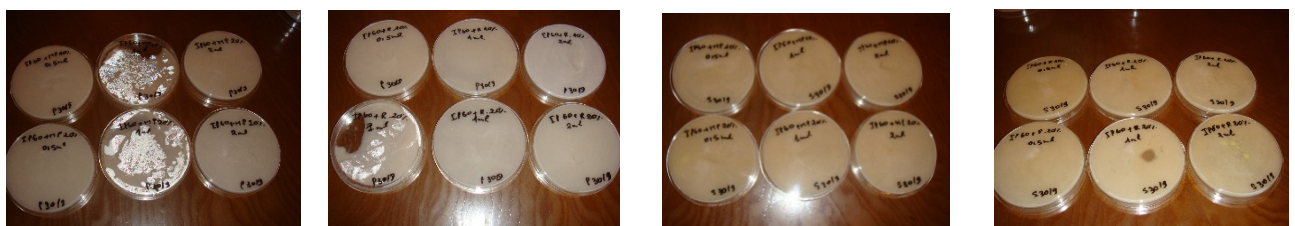
Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire après 24 heures.



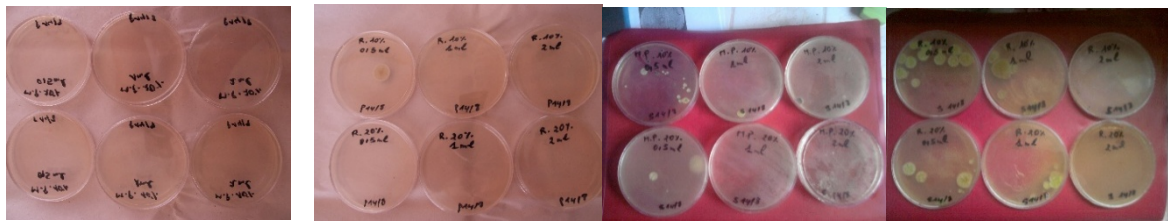
Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire IP60 après 7 jours.



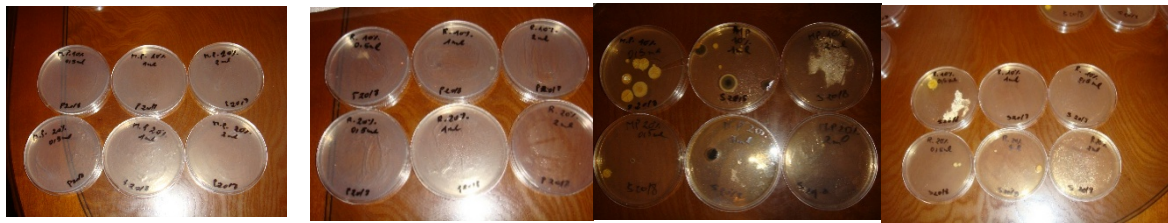
Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire IP60 après 30 jours.



Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 24heures.



Résultats du contrôle microbiologique sur l'après shampoing après 7 jours (J+7).



Résultats du contrôle microbiologique effectué sur l'après shampoing après 30 jours.

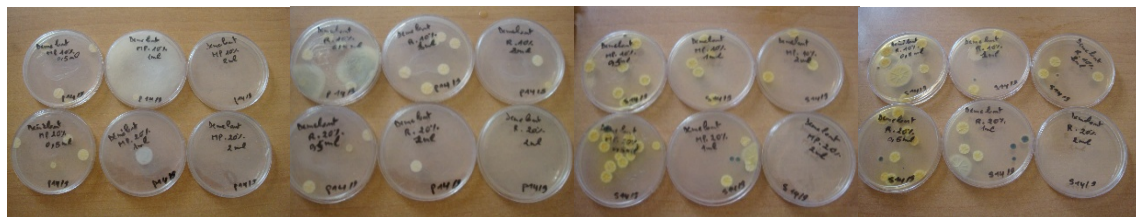


Tableau XIII : Résultats du contrôle microbiologique effectuée sur l'après shampoing après 24heures.

Microorganismes recherchés	Huile essentielle	Dilution (%)	Dose (ml)	Contrôle après 24h (J+1)	Nombre de colonies	Normes (UFC/g)
GAMT Milieu PCA	Romarin	10	0,5	Présence	1	<1000 NA 8287
			1	Absence		
			2	Absence		
		20	0,5	Absence		
			1	Absence		
			2	Absence		
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	1	
			1	Absence		
			2	Absence		
		20	0,5	Absence		
			1	Absence		
			2	Absence		
Levures et moisissures Milieu SAB	Romarin	10	0,5	Présence	11	<100 NA 8285
			1	Présence	4	
			2	Absence		
		20	0,5	Présence	3	
			1	Absence		
			2	Absence		
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	8	
			1	Présence	1	
			2	Absence		
		20	0,5	Présence	2	
			1	Absence		
			2	Absence		

Microorganismes recherchés	Huile essentielle	Dilution (%)	Dose (ml)	Contrôle après 7 jours (J+7)	Nombre de colonies	Normes (UFC/g)
GAMT Milieu PCA	Romarin	10	0,5	Présence	7	<1000 NA 8287
			1	Présence	3	
			2	Absence		
		20	0,5	Présence	4	
			1	Présence	1	
			2	Absence		
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	5	
			1	Présence	4	
			2	Absence		
		20	0,5	Présence	2	

Tableau XIV :
Résultats du contrôle microbiologique sur l'après sham poing après 7 jours (J+7)

Microorganismes recherchés et moisissures	Huile essentielle	Dilution (%)	Dose (ml)	Contrôle	Nombre de colonies	Normes		
Fonges et moisissures	Romarin	10	1	Absence	/	<100 NA 8285		
			2	Absence	/			
Milieu SAB		20	0,5	Présence	2			
			1	Absence	/			
			2	Absence	/			
			1	Absence	/			
			2	Absence	/			
			2	Absence	/			
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	8			
				1	Présence		6	
				2	Absence		/	
			20	0,5	Présence		2	
					1		Présence	/
					2		Absence	/

Tableau XV : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur l'après shampoing après 30jours.

GAMT	Romarin	10	0,5	Présence	6	<1000		
Microorganismes Milieu PCA recherchés	Huile essentielle	Dilution (%)	Dose	Contrôle	Nombre	Normes NA 8287		
			(ml)	après 24h (J+1) Présence	de colonies			
		20	0,5	Présence	3			
			1	Présence	1			
			2	Absence				
		Menthe poivrée	10	0,5	Présence		4	
				1	Présence		2	
				2	Absence			
	20	0,5	Présence	4				
			1	Présence	1			
			2	Absence				
	Levures et moisissures Milieu SAB	Romarin	10	0,5	Présence		7	<100 NA 8285
				1	Présence		6	
				2	Présence		3	
20			0,5	Présence	9			
				1	Présence	7		
				2	Absence			
Menthe poivrée		10	0,5	Présence	8			
			1	Présence	5			
			2	présence	3			
		20	0,5	Présence	13			
				1	Présence	7		
				2	Absence			

Tableau XVI:
Résultats du contrôle microbiologique

ogique effectué sur la crème solaire après 24 heures.

GAMT	Romarin	10	0,5	Présence	4	<1000
Milieu PCA			1	présence	3	NA 8287
Microorganismes recherchés	Huile essentielle	Dilution (%)	Dose (ml)	Contrôle après 7 jours (J+7)	Nombre de colonies	Normes
		20	0,5	Présence	3	
GAMT	Romarin	10	0,5	Présence	3	<1000
Milieu PCA			1	Absence		NA 8287
			1	Présence	1	
			2	Absence		
			2	Absence		
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	2	
		20	0,5	Présence	1	
			1	Présence	1	
			1	Absence		
			2	Absence		
			2	Absence		
	Menthe poivrée	20	0,5	Présence	2	
		10	0,5	Présence	3	
			1	Absence		
			2	Absence		
Levures et moisissures	Romarin	10	0,5	Présence	6	<100
Milieu SAB			1	Présence	4	NA 8285
			2	Absence		
		20	0,5	Présence	5	
			1	Absence		
			2	Absence		
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	8	
			1	Présence	6	
			2	Absence		
		20	0,5	Présence	4	
			1	Absence		
			2	Absence		

Tableau XVI I : Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire IP60 après 7 jours.

Microorganismes recherchés	Huile essentielle	Dilution (%)	1	Présence	2	Normes
			Dose (ml)	Présence 30 jours (J+30)	Nombre de colonies	
GAMT Milieu PCA	Romarin	10	0,5	Absence	/	<1000 NA 8287
			2	Absence	/	
			1	Absence	/	
Levures et moisissures Milieu SAB	Romarin	10	0,5	Présence	12	<100 NA 8285
			2	Absence	/	
			1	présence	8	
		20	0,5	Absence	/	
			2	présence	4	
			1	Absence	/	
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	8	
				Absence	/	
			1	Absence	5	
				Absence	/	
	Menthe poivrée	10	0,5	Présence	14	
			1	Présence	6	
			2	Présence	3	
		20	0,5	Présence	11	
			1	Présence	7	
			2	Absence	/	

Tableau XVI II :
Résultats du contrôle microbiologique effectué sur la crème solaire IP60 après 30 jours

Levures et moisissures Milieu SAB	Romarin	10	1	Absence	/	<100 NA 8285
			2	Absence		
		20	0,5	Absence	/	
			1	Absence		
		2	Absence	/		
			Absence			
	Menthe poivrée	10	0,5	Absence	/	
			1	Absence		
		2	Absence	/		
			Absence			
		20	0,5	Absence	/	
			1	Absence		
2	Absence	/				
	Absence					

**An
nex
e 3**

Préparation et composition des milieux de culture et diluant :

1- Gélo

se PCA: Plate Count Agar;

a) Composition (g/l)

Tryptone.....06

Extrait de levure02

Agar.....12

Eau.....100

B) Préparation

Dissoudre 22,5g dans un litre d'eau bouillante, ajuster le pH de sorte qu'après stérilisation il soit de $7,2 \pm 0,2$ à 25°C . répartir le milieu dans des flacons stériles. Stériliser à l'autoclave à $121 \pm 1^{\circ}\text{C}$ pendant 20 minutes.

b) Aspect final du milieu



2- Gélose Sabouraud

a) Composition (g/l)

Peptone de viande (bovin au lapin).....	03
Peptone de caséine (bovin).....	03
Peptone de soja	03
Extrait de levure	02
Extrait de malt	01
Glucose	19
Phosphate monopotassique.....	0,5
Phosphate disodique	0,5
Agar	13
Eau	1000

b) Préparation

Mettre 40g de poudre en suspension dans 01 L d'eau purifiée, chauffer 20minutes sous agitation fréquente, laissé bouillir pendant 01minutes de manière à dissoudre parfaitement la suspension, passé à l'autoclave 20minutes à 120°C.

c) Aspect final du milieu



3-Bouillon de neutralisation D/E (diluant)

a) Composition (g/l)

Digestion pancréatique caséine.....	50
Dextrose.....	10
Thioglycolate.....	01
Thiosulfate de sodium	6, 5
Bisulfate de sodium	2,5
Polysorbate 80	05
Lécithine.....	07
Pourpe de bromocrésol.....	0,02
Eau	1000

b) Préparation

Dissoudre 39g de milieu complet déshydraté dans 1 litre d'eau, mélangé tout en chauffant, répartir le milieu dans des flacons appropriés, stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20minutes.

c) Aspect final du milieu



Annexe 5

Présentation du Laboratoires VENUS S.A.P.E.CO

Non de société : laboratoires VENUS S.A.P.E.CO (Société Algérienne des Produits d'Entretien Cosmétique).

Adresse : 80rue du 17septembre 1956 Ouled-Yaich Blida.

Date de création : 1981.

Activités : fabrication des produits cosmétique et d'hygiène corporelle.

Marchés actifs : couverture 100% du territoire national.

Partenariat : Fabrication sous licence de produit de soins dermique SOFIA cosmétique France.

Source d'approvisionnement des matières : France-Allemagne-Espagne-Italie.

Effectifs de l'entreprise : 312 employés dont 38 Cadres, ingénieurs et licenciés des différentes branches.

Certificat ISO 9001 version 2008 : la mise en place d'un système de management de la qualité certifié selon les exigences de la norme ISO 2001 version dans le courant du mois d'avril 2003 n'est autre que la concrétisation de la volonté de l'entreprise à vouloir faire de la satisfaction de ses clients son cheval de bataille.

Certification ISO 14001 Version 2008 : le parachèvement de la mise en place des outils d'amélioration s'est concrétisé en mois de Mai 2008 par l'obtention de la certification ISO 14001 de notre système de management environnemental.