

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

N°...../SNV/2017

## MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**Mlle Hassi Ahlem**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER EN BIOLOGIE**

**Spécialité: valorisation des substances naturelles végétales**

THÈME

**Etude de la rémanence d'un savon  
additionné à l'huile essentielle de  
citron (*citrus limon*)**

Soutenu publiquement le 03/07/2017

DEVANT LE JURY

Présidente Mme M. BOUALEM

M.C U. Mostaganem

Encadreur Mme I. DRISSI

M.A U. Mostaganem

Examinatrice Mme M. TERBECHE

M.A U. Mostaganem

*Thème réalisé au Laboratoire de biochimie et de microbiologie*

**Thème :**

**Etude de la rémanence d'un savon additionné à  
l'huile essentielle de citron (*citrus limon*)**

**Présenté par :**

HASSI Ahlem

## Résumé

Ce travail s'est centré sur la valorisation de l'huile essentielle de citron (*Citrus limon*). Cette dernière a été extraite par l'entraînement à la vapeur d'eau.

Le rendement d'extraction obtenu est de 0.43% avec une densité de 0.852 qui est conforme aux normes internationales des huiles essentielles.

L'essai de synthèse d'un savon additionné à l'huile essentielle de *Citrus limon* a été expérimenté, en vue d'étudier son efficacité et sa rémanence.

Les caractéristiques physicochimiques du savon obtenu ; pH de 9.65 et l'alcali libre caustique de 0.28%, nous ont permis de classer le savon dans la 2<sup>ème</sup> gamme des savons de ménages.

Ce travail a montré que le savon obtenu semble avoir une excellente rémanence et la peau des mains semble protégée de la contamination bactérienne. Avec un taux de réduction de 94,64% ; 4 heures après la désinfection.

Les résultats obtenus ouvrent de nombreuses perspectives d'études qui pourraient être réalisées pour comparer l'efficacité et la rémanence du savon obtenu avec d'autres savons, pouvant servir de témoins.

**Mots clés:** huile essentielle, *Citrus limon*, savon, taux de réduction, rémanence.

## **Abstract**

This work has focused on the valorization of lemon essential oil (*Citrus limon*). The latter was extracted by steam distillation.

The extraction yield obtained is 0.43% with a density of 0.852 which complies with the international standards of essential oils.

The test of synthesis of a soap added to the essential oil of *Citrus limon* was tested, to study its effectiveness and its remanence.

The physicochemical characteristics of the soap obtained; pH of 9.65 and caustic free alkali of 0.28%, allowed us to classify the soap in the 2<sup>nd</sup> range of household soaps.

This work has shown that the soap obtained seems to have excellent remanence and the skin of Hands seems protected from bacterial contamination. With a reduction rate of 94.64%; 4 hours after disinfection.

The results obtained open up numerous perspectives for studies which could be carried out to compare the effectiveness and the persistence of the soap obtained with other soaps, as witnesses.

**Key- words:** essential oil, Citrus silt, soap, reduction rate, remanence.

# Table de matière

	<i>Pages</i>
Préambule	2
Résumé	7
Abstract	8
Liste des figures	9
Liste des tableaux	10
Liste des photos	11
Liste des annexes	12
Abréviations	13
Introduction	14
Chapitre 1 : Généralités sur le savon	15
1. Histoire du savon	15
2. Définition	15
3. Différents types de savon	16
3.1. Suivant la provenance géographique d'origine ou la couleur	16
3.1.1. Le savon d'Azul e Branco	16
3.1.2. Le savon de Castille	16
3.1.3. Le savon d'Alpe	17
3.1.4. Le savon de Marseille	17
3.1.5 Le savon blanc	17
3.2 Suivant l'usage	18
3.2.1. Savon de ménage :	18
3.2.2. Un savon Ponce :	18
3.2.3. Dentifrice écologique et artisanal :	18
3.3. Suivant l'aspect ou la composition :	19
3.3.1. Le savon liquide :	19
3.3.2. Le savon noir :	19
3.3.3. Le savon transparent :	20
3.3.4. Le savon d'atelier :	20
3.3.5. Savon antiseptique :	20
3.3.6. Le savon dermatologique :	21

4. Technologies de la fabrication :	21
4.1. La saponification	21
4.2. Structure d'un détergent.	22
5. Les matières premières pour la fabrication de savon :	22
6. Les méthodes de fabrication :	23
6.1. Fabrication artisanale :	23
6.1.1. La fonte ou "rebatch"	23
6.1.2. Le procédé à froid	23
6.1.3. Le procédé à chaud	24
6.2. Fabrication industrielles	24
6.2.1. L'embâtage :	24
6.2.2. Le relargage :	24
6.2.3. L'épilage :	25
6.2.4. Le lavage :	25
6.2.5. Le séchage :	25
7. Propriétés physico-chimiques du savon :	25
7.1. Le point de fusion	25
7.2. Le pouvoir mouillant	26
7.3. Le pouvoir émulsifiant des détergents dans l'eau :	26
7.4. Le pouvoir dispersant	27
7.5. Le pouvoir moussant	27
8. Action moléculaire du savon	27
8.1. Formation des micelles	28
8.2. Propriétés détergentes	28
9. Indices techniques	29
9.1. Le surgraissage	29
9.2. Le pH du savon	30
9.3. Indice d'iode	31
9.4. Indice de saponification	31
10. Impact écologique :	32
10.1. Impact écologique à la fabrication :	32
10.2. Impact écologique à l'utilisation :	32
11. Notion de rémanence	32

<b>Chapitre 2. Huiles essentielles du citron (<i>Citrus limon</i>)</b>	34
1. Généralités sur le citron	34
1.1. Le citron, quelques mots d'histoire	34
1.2. Description de l'arbre	34
1.3. Composition du fruit	35
2. Généralités sur les huiles essentielles	36
2.1. Historique	36
2.2. Définition	37
2.3. Propriétés physico-chimiques	37
2.4. Composition chimique	38
2.5. Localisation de biosynthèse de l'huile essentielle de <i>Citrus limon</i>	38
2.6. Méthodes d'extraction	39
2.6.1. La distillation	39
2.6.2. Extraction par « l'expression à froid »	40
2.7. production mondiale des huiles essentielles	41
2.8. Domaines d'application et intérêt phytothérapie	41
2.9. Toxicité des huiles essentielles	42
<b>Chapitre 3. Matériels et méthodes</b>	43
Objectifs du travail	43
1 <sup>ère</sup> partie : Extraction de l'huile essentielle du citron	43
1. Matériel végétal	43
2. Extraction de l'huile essentielle du citron ( <i>Citrus limon</i> )	43
2.1. Principe d'extraction	43
2.2. Technique d'extraction	44
2.3. Calcul du rendement	45
2 <sup>ème</sup> partie : Synthèse du savon	45
1. Principe de la saponification	45
2. Technique de la synthèse du savon	45
1 <sup>ère</sup> étape : chauffage à reflux	45
2 <sup>ème</sup> étape : le relargage	46
3 <sup>ème</sup> étape : filtration sur Büchner	46
3. Incorporation de l'HE du citron	46
4. Moulage et séchage	47

3 <sup>ème</sup> Partie : Etude des propriétés du savon obtenu	47
1. Détermination du point de fusion	47
2. Détermination du pH	48
3. Détermination de l'alcali libre caustique	48
4. Détermination du pouvoir moussant de savon dans différents milieux.	48
4.1. En milieu acide	49
4.2. En milieu salin	49
4 <sup>ème</sup> partie : Etude microbiologique	49
1. Méthode d'évaluation de l'efficacité et la rémanence du savon	49
2. Description globale du protocole expérimental	49
Étape 1. Prélèvements bactériologiques avant lavage	49
Étape 2. Prélèvement bactériologique après lavage.	51
Étape 3. Dénombrement des bactéries	51
3. Calcul des taux de réduction bactérienne	51
4. Analyse statistique des résultats	52
<b>Chapitre 4. Résultats et discussions</b>	53
1 <sup>ère</sup> partie : Extraction de l'HE de citron	54
Calcul de rendement	54
2 <sup>ème</sup> partie : Synthèse du savon	54
3 <sup>ème</sup> Partie : Etude des propriétés du savon obtenu	55
1. Détermination du point de fusion	55
2. Détermination du pH	55
3. Détermination de l'alcali libre caustique	56
4. Détermination du pouvoir moussant de savon dans différents milieux.	56
4.1. En milieu acide	56
4.2. En milieu salin	57
4 <sup>ème</sup> partie : Etude microbiologique	59
<b>Conclusion et perspectives</b>	67
<b>Références</b>	68
<b>Annexes</b>	76

## *Préambule*

*L*es huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisaient autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. La connaissance des huiles essentielles remonte à fort longtemps puisque l'homme préhistorique pratiquait déjà, à sa manière, l'extraction des principes odorants des plantes.

En effet, ces huiles essentielles constituent souvent une matière première destinée à des secteurs d'activités aussi divers que ceux de la parfumerie, des cosmétiques, des industries pharmaceutiques et de l'agroalimentaire.

L'objectif de notre travail est double. Tout d'abord il consiste à extraire l'huile essentielle de citron (*Citrus limon*) et l'incorporer dans un savon synthétisé au Laboratoire de Biochimie de l'Université de Mostaganem. D'autre part, d'étudier les caractéristiques physico-chimiques et la rémanence du savon obtenu.

Cette étude préliminaire s'inscrit parmi les travaux de recherche menés sous la direction de M<sup>me</sup> I. DRJSSI, Maître assistante à l'Université de Mostaganem. Qu'il soit persuadé de mes sincères gratitude et reconnaissances. Je tiens aussi à remercier M<sup>me</sup> F. BOUTAMRA, Responsables du Laboratoire de Biochimie et M<sup>me</sup> N. KETROUSSI, Responsable du Laboratoire de Microbiologie pour leur aide et leurs précieux conseils tout au long de notre travail.

Le présent mémoire comprend trois parties: données bibliographiques, matériels et méthodes, résultats et discussions. Les premières pages ont été consacrées à l'exposition des abréviations, de la table des matières, du résumé et de l'abstract. Enfin conclusion et perspectives, références bibliographiques, annexes figurent aux dernières pages. Les illustrations graphiques et les calculs des moyennes ont été faits par Excel 2007.

Nous apprécions considérablement que M<sup>me</sup> M. BOUALLEM, Mitre de Conférence à l'Université de Mostaganem et M<sup>me</sup> M. TERBECHÉ, Maître-assistante à l'Université de Mostaganem aient bien voulu examiner ce travail et composer le Jury de la soutenance.

*Je remercie mes chers parents pour le soutien qu'il m'a apporté abondamment. Je leur souhaite une vie longue et prospère.*

*Ahlem HASSI.*

## Liste des tableaux

	<i>Pages</i>
Tableau 1. Point de fusion des savons usuels	26
Tableau 2. Indice d'irritation et pH des savons testés	30
Tableau 3. Composition biochimique moyenne du citron	36
Tableau 4. Production mondiale des huiles essentielles en 2008	41
Tableau 5. Tableau récapitulatif du déroulement des prélèvements	51
Tableau 6. Caractéristiques physico-chimiques du savon synthétisé	58
Tableau 7. Résultats des prélèvements microbiologiques	60
Tableau 8. Les taux de réduction bactérienne après 1min de lavage avec le savon	61
Tableau 9. Les taux de réduction bactérienne après ½ h de lavage avec le savon	62
Tableau 10. Les taux de réduction bactérienne après 2 h de lavage avec le savon	63
Tableau 11. Les taux de réduction bactérienne après 4 h de lavage avec le savon	64

## Liste des photos

	<i>Pages</i>
Photo 1. Matériel végétal utilisé	43
Photo 2. Dispositif utilisé pour l'extraction de l'HE du citron.	44
Photo 3. Ampoule à décanter d'entraînement à la vapeur d'eau.	45
Photo 4. Dispositif de chauffage à reflux.	46
Photo 5. Dispositif de filtration du savon.	46
Photo 6. La pâte du savon obtenue.	47
Photo 7. Moulage de la pâte du savon.	47
Photo 8. L'appareil de banc de Koffler.	48
Photo 9. Prélèvement bactériologique avant lavage des mains	50
photo 10. Lave les mains	50
Photo 11. L'huile essentielle de citron ( <i>citrus limon</i> ) obtenue	53
Photo 12. Le savon synthétisé après séchage.	55
Photo 13. La solubilité du savon.	57
Photo 14. La solubilité du savon.	58
Photo 15. Boite de gélose D1 après incubation.	59
Photo 16. Boite de gélose D1 (1 min) après incubation.	59

## Liste des figures

	<i>Pages</i>
Figure 1. Le savon d'Azul e Branco	19
Figure 2. Le savon de castille.	19
Figure 3. Le savon d'Alpe	20
Figure 4. Le savon de Marseille.	20
Figure 5. Savon Blanc	21
Figure 6. Savon de ménage en barres	21
Figure 7. Le savon ponce	22
Figure 8. Savon dentifrice	22
Figure 9. Savon liquide	22
Figure 10. Savon noir	23
Figure 11. Savon Transparent	23
Figure 12. Le savon d'atelier	24
Figure 13. Savon Antiseptique	24
Figure 14. Le savon dermatologique	25
Figure 15. Structure d'un détergent	25
Figure 16. Le relargage	26
Figure 17. Des détergents dans l'eau	26
Figure 18. Structure schématique d'un tensioactif	34
Figure 19. Disposition des molécules de savon et formation des micelles	35
Figure 20. Phénomène de détergence	36
Figure 21. La plante de <i>Citrus limon</i>	39
Figure 22. Poche sécrétrice des huiles essentielles	40
Figure 23. Dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau.	42
Figure 24. Dispositif de l'extraction par expression à froid	48
Figure 25. Rendement en HE extraite à partir de citron	50
Figure 26. Solvatation des ions de savon dans l'eau	52
Figure 27. Taux de réduction bactérienne 1min après lavage au savon	72
Figure 28. Taux de réduction bactérienne (TR) après 1min	79
Figure 29 : Taux de réduction bactérienne (TR) après ½ heure	85
Figure 30 : Taux de réduction bactérienne (TR) après 2heures	86
Figure 31 : Taux de réduction bactérienne 4 h après lavage au savon	87

## Liste des Annexes

	<i>Pages</i>
Annexe n° 1. La composition de la gélose nutritive	76
Annexe n° 2. Les normes adoptées pour classer les savons et détergents	76
Annexe n° 3. Relargage du savon	76
Annexe n° 4. Détermination des alcalis libres caustiques du savon	77
Annexe n° 5. Les prélèvements microbiologiques des mains de l'opérateur 1	77
Annexe n° 6. Les prélèvements microbiologiques des mains de l'opérateur 2	79
Annexe n°7. Les prélèvements microbiologiques des mains de l'opérateur 3	80

## *Abréviations*

% : Pour cent.

°C : Degré Celsius.

µl : Microlitre.

cm : Centimètre.

g : Gramme.

H : Heure.

HE : Huile Essentielle.

Kcal : Kilocalorie.

m : Mètre.

M : Molaire (mol/l).

MF : Matière fraîche.

Max : Maximum.

Min : Minimum.

mg : Milligramme.

min : Minute.

ml : Millilitre.

mm : Millimètre.

sec : Seconde.

SM : Solution mère.

t : Temps.

TM : Taux de Mousse.

TR : Taux de Réduction bactérienne.

## Introduction

La peau est l'enveloppe protectrice du corps humain. Du fait de sa très grande sensibilité, elle est soumise à l'influence du climat, des habitudes alimentaires, des soins polluants et agressifs et des piqûres d'insectes. Elle a donc besoin d'être entretenue par des savons.

La nature nous procure de nombreux ingrédients qui ont des potentiels pour les soins cosmétiques. Deux exemples d'ingrédients de très grande qualité et efficacité sont les huiles végétales et les huiles essentielles.

Les huiles essentielles ont, à toutes époques, occupé une place importante dans la vie quotidienne des hommes qui les utilisent autant pour se parfumer, aromatiser la nourriture ou même se soigner. Beaucoup de travaux sont réalisés dans ce sens, du fait de l'importance incontestable des huiles essentielles dans divers secteurs économiques, comme par exemple : l'industrie de la parfumerie et de la cosmétique, l'industrie alimentaire, l'industrie pharmaceutique et plus particulièrement, la branche de l'aromathérapie qui utilise leurs propriétés bactéricides et fongicides.

La cosmétique, et principalement la cosmétique bio, est également un secteur qui utilise de plus en plus d'huiles essentielles. On les retrouve dans de nombreux produits comme: savons, shampoings, gel-douches, crèmes des soins,

C'est dans ce contexte que se situe ce travail dont les objectifs principaux peuvent se résumer ainsi :

- Extraire l'huile essentielle du citron (*citrus limon*) et l'incorporer dans la synthèse d'un savon.
- Etudier les caractéristiques physico-chimiques du savon obtenu.
- Evaluer, *in vivo*, son pouvoir antiseptique, et sa rémanence.

Ce mémoire comporte 4 chapitres. Le premier chapitre entame quelques généralités sur le savon. Le chapitre 2 dresse une revue de littérature sur les huiles essentielles et l'huile de citron (*citrus limon*), les procédés d'extraction, la composition et les propriétés biologiques et pharmacologiques y sont présentes. Le troisième chapitre est consacré aux Matériels et Méthodes et décrit le contexte global de cette étude ainsi que les différents objectifs à atteindre. Ensuite, le chapitre 4 représente tous les résultats obtenus au cours de notre expérimentation avec une discussion. Finalement, la conclusion, les perspectives futures ainsi que les références et les annexes figurent dans les dernières pages.

## Chapitre 1. Généralités sur le savon

### 1. Histoire de savon :

Ce sont des écrits datant d'environ 2000 ans av. J.-C qui mentionnent pour la première fois l'utilisation d'un savon sous forme de pâte faite d'huile végétale, d'argile et de cendres, pour le nettoyage du linge.

En Europe, ce sont les Gaulois qui les premiers en fabriquèrent à partir de graisses animales et de potasse de cendres de hêtre. Ils l'utilisaient comme shampoing. Malgré une tradition du bain très développée, les Romains n'adopteront un produit similaire qu'au II<sup>ème</sup> siècle après J.C. Il semble que ce soit à Alep, dans le nord de la Syrie, que fut vraiment créé, vers le VIII<sup>ème</sup> siècle, le premier savon dur végétale à base d'huile d'olive, proche de celui qui s'utilise encore aujourd'hui. La technique fut alors transmise par les arabes en Espagne, en Italie, puis à Marseille, dont le port devint le principal centre de transit du savon ainsi que des matières premières et parfum s'utilisées pour sa fabrication (CLOAREC, 2013).

La soude utilisée à l'époque provenait de cendres obtenues par la combustion de plantes comme la salicorne ou la fougère. Selon certaines sources, les classes favorisées ont adopté le savon pour l'hygiène corporelle dès le Moyen Age, mais cette tendance disparut au début du XVI<sup>e</sup> s au profit des parfums, considérés à l'époque comme un moyen plus efficace de prévention contre les maladies contagieuses comme la peste. L'hygiène réapparaît timidement à la fin du XVIII<sup>e</sup> siècle, toujours dans les classes aisées, et les savons parfumés deviennent progressivement à la mode (LEBLANC, 2001).

Au XIX<sup>e</sup> siècle, l'industrie du savon est en plein essor et introduit progressivement les huiles de coprah et de palme dans la fabrication. A la fin du XX<sup>e</sup> siècle, le savon est progressivement supplanté par les tensioactifs de synthèse dérivés du pétrole, sans pour autant disparaître des rayons de produits cosmétiques (WATERVAL, 2011).

### 2. Définition de Savon :

Les savons sont les produits de nettoyages les plus anciens; ce sont des sels de potassium ou de sodium d'acides gras hydrosolubles. Ils sont fabriqués par saponification à partir de graisses et d'huiles ou de leurs acides gras, en les traitants chimiquement avec un alcali fort.

Le savon est utilisé comme tensioactif anionique : il possède une bonne aptitude à émulsionner les graisses et à les mettre en suspension dans l'eau, mais il présente l'inconvénient de former des sels de calcium insolubles qui se déposent sur les tissus, lors des lavages dans des eaux dures.

C'est pour cette raison que pour le marché du lavage du linge, il est remplacé par les détergents, mais garde le marché de la toilette (SPITZ, 2000).

### 3. Les différents types des savons :

Le savon commercial se présente sous différentes formes : de bloc (pain, cube, formes ovalisées...), de poudre, de paillètes fines (lessives), de mousses, de gels ou de solutions, comme le savon liquide (CAUBERGS, 2006).

#### 3.1. Suivant la provenance géographique d'origine ou la couleur :

##### 3.1.1. Le savon d'Azul e Branco :

L'Azul e Branco est un savon portugais comparable au savon de Marseille, mais de couleur Bleu et Blanc, comme la traduction de son nom l'indique (FRANÇOISE, 2013).



Figure 1. Le savon d'Azul e Branco

##### 3.1.2. Le savon de Castille :

Le savon de castille est un savon biodégradable préparé uniquement avec de l'huile d'olive, de l'eau et de la soude (FRANÇOISE, 2013).



Figure 2. Le savon de castille.

##### 3.1.3. Le savon d'Alpe :

Le savon d'Alep, le plus ancien savon syrien, est à base d'huile d'olive et d'huile de baies de laurier (FRANÇOISE, 2013).



**Figure 3. Le savon d'Alpe**

### **3.1.4 Le savon de Marseille :**

Le savon de Marseille est préparé avec des huiles végétales et de la soude. Il comporte au moins l'équivalent de 72 % d'acides gras (PATRICK, 1999).



**Figure 4. Le savon de Marseille.**

### **3.1.5 Le savon blanc :**

Le savon blanc. Le *Grand Larousse du XIX<sup>e</sup> siècle* l'assimile au banal savon de Marseille ou aux différents savons de toilette. La couleur blanche indique qu'il s'agit d'un savon sodique, de teinte claire ou nettement moins sombre que les différents « savons noirs » à la potasse ou lessive potassique. Notons que l'industrie suisse a promu une fabrication de savon de toilette à partir de l'huile de tournesol, nommée *savon blanc* (FRANÇOISE, 2013).



**Figure 5. Le savon blanc**

### 3.2 Suivant l'usage :

#### 3.2.1. Savon de ménage :

Savon de ménage C'est un savon à tout faire, aussi bien pour les mains, que pour détacher. Son parfum est neutre, sa mousse fine (FRANÇOISE, 2013).



Figure 6. Savon de ménage en barres

#### 3.2.2. Un savon Ponce :

Savon ponce de Marseille Senteur Patchouli efficace pour exfolier sans agresser la peau grâce aux ingrédients hydratants et à la poudre de pierre ponce (NATURWAREN, 2004).



Figure 7. Le savon ponce

#### 3.2.3. Dentifrice écologique et artisanal :

Le savon dentifrice est un savon utilisé pour les dents et les gencives saponifié à froid à base d'huiles : olive, coco, colza, eau, glycérine, argile blanche, huiles essentielles de citron vert, et patchouli (VIRBEL-ALONSO, 2013).



Figure 8. Le savon dentifrice

### 3.3. Suivant l'aspect ou la composition :

#### 3.3.1. Le savon liquide :

Le *savon liquide* à la potasse est préparé à partir d'huile de ricin et de noix de palmier. Il a la plus faible teneur équivalente en acides gras : 15 à 20 % en masse (VIRBEL-ALONSO, 2013).



Figure 9. Le savon liquide

#### 3.3.2. Le savon noir :

Est un savon composé de pâte d'olive saponifier, d'eau, d'huile d'olive et d'hydroxyde de sodium. Au Maroc, le savon noir est originaire de la région d'Essaouira, au sud du pays, sur la façade atlantique. Au Maghreb, ce savon est surtout utilisé comme produit de beauté. En effet, le savon noir du Beldi, est une pâte de gommage végétale et huileuse sans aucun grain, obtenue à partir d'un mélange d'huile et d'olives noir broyées et macérées dans du sel et de l'hydroxyde de sodium. Ce savon est riche en vitamine E, hydratant et purifiant. Il est aussi utilisé comme détergent lorsqu'il est liquide (CAUBERGS, 2006).



Figure 10. Le savon noir

### 3.3.3. Le savon transparent :

Le *savon transparent* est obtenu par dissolution d'un savon de suif dans de l'alcool à chaud, puis refroidissement lent et coulage. Il s'appelle *savon de glycérine* lorsque l'alcool est le glycérol, nom actuel de la glycérine (VIRBEL-ALONSO, 2013).



**Figure 11. Le savon transparent**

### 3.3.4. Le savon d'atelier :

Le savon d'atelier est un savon spécial prévu pour nettoyer les hydrocarbures et suies (pour les garagistes, mécaniciens, imprimeurs, mineurs, etc.) (CHOUDAT, 2007).



**Figure 12. Le savon d'atelier**

### 3.3.5. Savon antiseptique :

Un savon antiseptique est une combinaison entre un détergent et un antiseptique. Il est intéressant à utiliser avant d'appliquer un antiseptique seul. Le détergent présent dans ce type de produit optimise l'efficacité de l'antiseptique qui est le principe actif. En effet, le détergent élimine des parasites qui pourraient souiller le produit. Pour utiliser correctement un savon antiseptique il faut penser à bien le rincer après l'avoir utilisé et avant d'appliquer l'antiseptique exclusif (sans savon), (VIRBEL-ALONSO, 2013).



**Figure 13. Le savon antiseptique**

### 3.3.6. Le savon dermatologique :

Le savon dermatologique est soit un savon « surgras » enrichi avec un produit spécifique destiné à protéger la peau (comme l'huile d'amande douce, le beurre de karité...), soit un savon « sans savon ». Dans ce cas, ces pains dermatologiques ou syndets sont fabriqués à partir d'agents lavants de synthèse, contrairement au savon ordinaire, résultat d'une réaction entre un acide gras et une base comme la soude. Plus doux que le savon ordinaire, il dessèche moins la peau (VIRBEL-ALONSO, 2013).



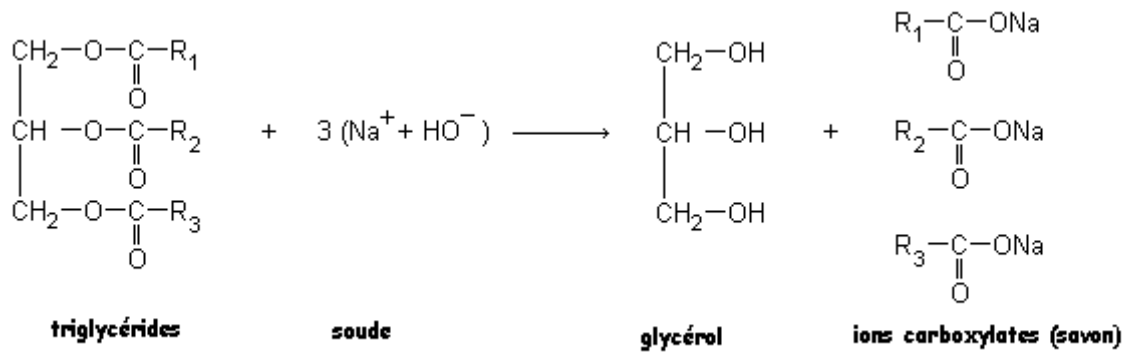
**Figure 14. Le savon dermatologique**

## 4 Technologies de la fabrication :

### 4.1. La saponification

La saponification est la réaction chimique transformant le mélange d'un ester (acide gras) et d'une base forte, généralement de la potasse ou de la soude, en savon et glycérol à une température comprise entre 80 et 100°C. L'hydrolyse des corps gras produit du glycérol et un mélange de carboxylates (de sodium ou de potassium) qui constitue le savon (CAUBERGS, 2006).

La réaction de saponification est la suivante:



Où R est une chaîne d'atomes de carbones et d'hydrogènes. On peut avoir par exemple  $\text{R}=(\text{CH}_2)_{14}\text{-CH}_3$

En clair, cela donne:

- soit : acide gras + NaOH → glycérine + savon dur
- soit : acide gras + KOH → glycérine + savon mou.

#### 4.2. Structure d'un détergent.

Les détergents sont des composés tensioactifs. Grâce à leur structure spécifique, ils développent aux interphases des actions particulières telles que l'abaissement de la tension superficielle des liquides (ODEN BELLA, 2014).

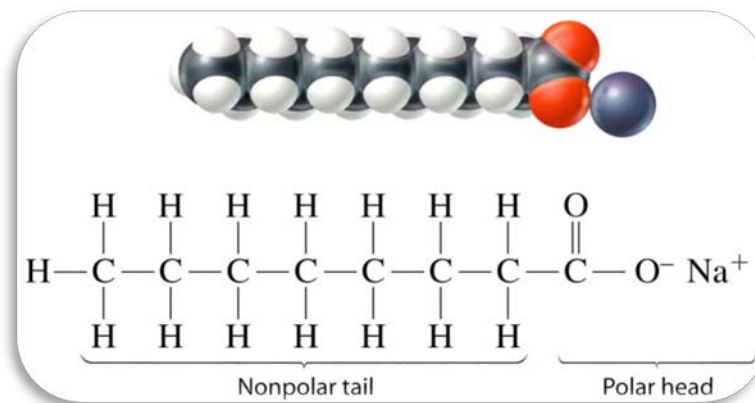


Figure 15. Structure d'un détergent

#### 5 Les matières premières pour la fabrication de savon :

Les matières premières essentielles pour la fabrication de savon sont :

- les corps gras : graisses ou huiles
- les alcalis ou les lessives : soude caustique ou potasse caustique
- les saumures.
- les additifs.

L'adjonction de sel, de colorant, de parfum et de charges est possible mais pas indispensable. Quelle matière première précise est employée dépendra évidemment de ce qui est disponible sur le marché, des moyens financiers, du matériel dont on dispose ainsi que des connaissances (CAUBERGS, 2006).

## **6 Les méthodes de fabrication :**

### **6.1. Fabrication artisanale :**

Il existe trois grandes méthodes artisanales pour produire du savon : le "melt and pour" ou rebatch, le procédé à froid et procédé à chaud (DONNEZ, 1993).

#### **6.1.1. La refonte ou "rebatch"**

La méthode consiste à fondre une base de savon (souvent commerciale), puis à y ajouter des colorants et des parfums avant de la verser dans des moules. L'intérêt de cette technique est de permettre l'introduction d'additifs qui ne supportent pas les milieux très basiques, puisqu'ils sont ajoutés dans un savon déjà terminé et non pendant le processus de saponification. Ce procédé ne nécessite donc que des précautions lors de la refonte, celle-ci devant se faire au bain-marie et ne jamais directement dans un récipient placé sur une plaque chauffante, pour éviter que la température ne puisse monter au-delà de 100°C.

Les savons finaux obtenus par cette méthode nécessitent un long temps de séchage à cause de l'eau supplémentaire ajoutée lors de la refonte pour obtenir une pâte qui puisse être versée facilement dans des moules (DONNEZ, 1993).

#### **6.1.2. Le procédé à froid**

Cette méthode est complète : on part d'un mélange d'huiles, on ajoute la soude nécessaire et on saponifie à une température proche de la température ambiante. Les additifs et parfums sont ajoutés au cours même de la saponification, juste avant de verser dans les moules. Le savon obtenu par cette méthode doit murir au moins un mois avant d'être utilisé. Ce temps de maturation est souvent considéré comme indispensable pour terminer la saponification, mais il s'agit surtout d'une période de séchage au cours de laquelle le savon perdra entre 10 et 20% de son poids, qui s'accompagne d'une perte de poids de 10 à 20%. La saponification se termine durant la première semaine de cette période. Le processus de séchage peut être bien sur prolongé : le célèbre savon d'Alep est séché pendant 8 mois avant d'être commercialisé (DONNEZ, 1993).

### **6.1.3. Le procédé à chaud**

La méthode est similaire au procédé à froid, mais ici, la saponification est réalisée à 80°C environ pendant trois heures, avant l'ajout des additifs et le moulage. Les savons obtenus sont directement utilisables, car la saponification est complètement terminée à l'issue du processus, mais un temps de séchage est quand même nécessaire.

Les additifs sensibles, comme les huiles essentielles par exemple, perdent moins leurs propriétés avec cette méthode, s'ils peuvent être intégrés à la pâte à une température n'excédant pas 50°C.

La méthode à chaud possède donc certains avantages sur la méthode à froid, mais elle a également ses inconvénients : le savon produit est très difficile à mouler et présente souvent une texture plus grossière que son homologue réalisé à froid dont la texture est plus lisse (DONNEZ, 1993).

## **6.2. Fabrication industrielles**

La fabrication et les procédés industries sont variés depuis les premières mises au point vers 1750. La fabrication en cuve est autrefois caractérisée par l'embâtage, le relargage, l'épinage, le lavage et séchage. Voici les étapes-types de la Belle Époque (KONE, 2000).

### **6.2.1. L'embâtage :**

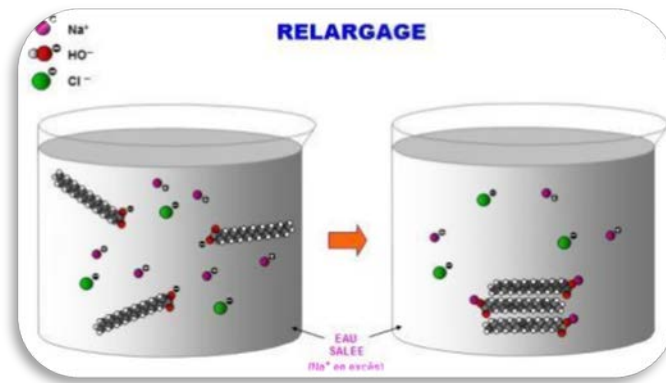
Consiste à mélanger les corps gras à la lessive de soude. Ici une solution de soude, facilement alcaline, est chauffée à ébullition. Le corps gras végétal, c'est-à-dire l'huile d'olive, d'arachide, de coton, de palme, de noix de coco, de sésame ou le corps gras animal, suif ou l'huile de poisson, est ajouté par petites doses et souvent sous forme de mélange complexe selon le savon à obtenir.

Notons qu'il reste dans la lessive de soude une quantité défini de vieilles solutions savonneuses, ou solutions mères soutirées d'une précédente saponification.

Pour obtenir du savon mou on utilisera des huiles de colza, d'œillette ou de chènevis et de la potasse caustique (KOH) (SPITZ, 2009).

### **6.2.2. Le relargage :**

Utilise des lessives concentrées puis des lessives salées qui permettent une meilleure séparation des sels alcalins d'acide gras, c'est-à-dire du savon formé qui est relargué et surnage en grumeaux (SPITZ, 2009).



**Figure 16. Le relargage**

### 6.2.3. L'épinage :

Qui prend son nom de l'épave, robinet du bas de la cuve, consiste à soutirer l'eau salée et le glycérol, appelé glycérine.

### 6.2.4. Le lavage :

Consiste à répéter l'ajout de solutions salines, pour emporter glycérol et lessives résiduelles.

### 6.2.5. Le séchage :

Permet d'obtenir des pains de savon secs et consistants. Les deux étapes médianes ont parfois disparu au cours des années 1920 pour favoriser une épuration rapide et permettre une coulée à l'état liquide dans des bassins peu profonds, appelés mises ou le savon se solidifie avant d'être débité en bandes, puis après séchage, marqué et débité en cubes.

## 7 Propriétés physico-chimiques du savon :

Les savons commerciaux sont des mélanges de sels de sodium ou de potassium et d'acides gras. La longueur de la chaîne carbonée et surtout la présence d'insaturation, c'est-à-dire d'une double liaison induisant une conformation spatiale, une rigidité ou une mobilité spécifique, affectent les propriétés (PORE, 1992).

### 7.1. Le point de fusion

Le point de fusion des savons, même lorsque le sel d'acide gras est unique et purifié, reste assez mal défini, variant entre 200 °C et 250 °C, par mesure sur un banc Koffler. Le liquide obtenu est transparent, non laiteux.

À basses températures dans l'eau liquide, la dispersion du savon est difficile par agitation, sauf pour la lauréate de sodium avec sa « petite » chaîne en C11. Plus la température est élevée, plus la dispersion est facile, donnant des eaux savonneuses claires et opalescentes. En milieu basique,

pour un optimum de pH entre 10 à 12, est constatée une hydrolyse partielle en acides gras et en ions basiques libres.

La dispersion est très faible dans le benzène, le toluène et la plupart des solvants organiques. La formation de micelles inverses est énergétiquement moins favorisée.

La nature de base utilisée en saponification influe considérablement le point de fusion de savon synthétisé, environ 150°C avec une base minérale et 200°C avec une base de synthèse (JOHO, 2007). Le tableau1, ci-après représente les points de fusion des savons usuels selon la nature de la base utilisée.

**Tableau 1. Point de fusion des savons usuels (JOHO, 2007).**

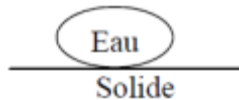
Savon	Calcium	Aluminium	Lithium	Sodium	Argile
Point de fusion (°C)	95	110	180	190	Infusible

## 7.2. Le pouvoir mouillant

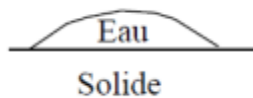
L'eau savonneuse peut pénétrer les petits interstices de la surface en contact (donc les fibres du linge, l'assiette, la table, la peau...) plus efficacement que l'eau (SPITZ, L, 2009).

### Remarque :

○ Eau seule : La tension superficielle élevée, la cohésion du liquide l'emporte sur les interactions avec le solide donc le liquide s'étale peu.



○ Eau + Tensioactif : La tension superficielle a baissé, moins de cohésion donc le liquide s'étale mouillage meilleure.



## 7.3. Le pouvoir émulsifiant des détergents dans l'eau :

En tant qu'agent tensioactif, le savon va s'immiscer entre l'huile et les fibres constituant le tissu et ainsi, petit à petit, diviser les corps gras puis former des micelles englobant de petites gouttes d'huile. On parle du pouvoir émulsifiant des détergents (PORE, 1992).

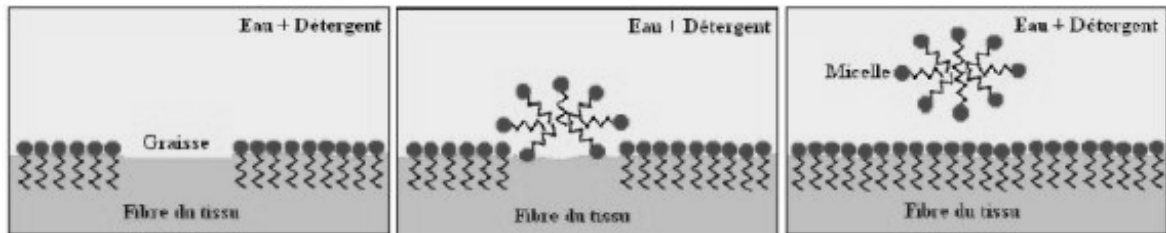


Figure 17. Des détergents dans l'eau (TOGBE et al., 2014).

#### 7.4. Le pouvoir dispersant

De par propriétés des ions carboxylates et la structure des micelles, celles-ci se repoussent l'une et l'autre et elles se retrouvent donc dispersées dans l'eau savonneuse (PORE, 1992).

#### 7.5. Le pouvoir moussant

Il se forme un film d'ions carboxylate à la surface de l'eau de tension superficielle faible. Par agitation de l'eau savonneuse, des bulles d'air peuvent alors être emprisonnées. La mousse n'intervient pas en tant que telle dans le lavage mais, c'est un indicateur de la tension superficielle du liquide et donc de son pouvoir détergent (PORE, J, 1992).

### 8 Action moléculaire du savon

Au niveau moléculaire, le savon se compose de molécules dites « bipolaires » ou « tensioactifs » (Figure 18), contenant des ions carboxylates qu'on peut ranger en deux groupes :

- Celles formées par un groupe polaire hydrophile, c'est le groupe  $\text{COO}^-$  porteur d'une charge électrique négative.
- Celles formées par un groupe hydrophobe mais aussi lipophile c'est à dire non polaire et soluble aux substances organiques, avec une chaîne carbonée R provenant de l'acide gras et dont le nombre d'atomes de carbone est en général élevé.

Dans la composition du savon, l'huile apporte la partie hydrophobe(ou non polaire) et la soude apporte la partie hydrophile (ou polaire) (BESSON, 2007).

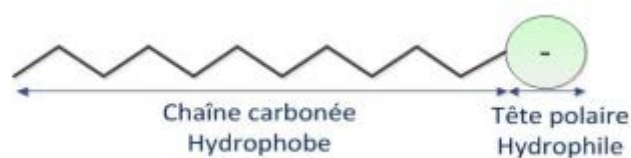
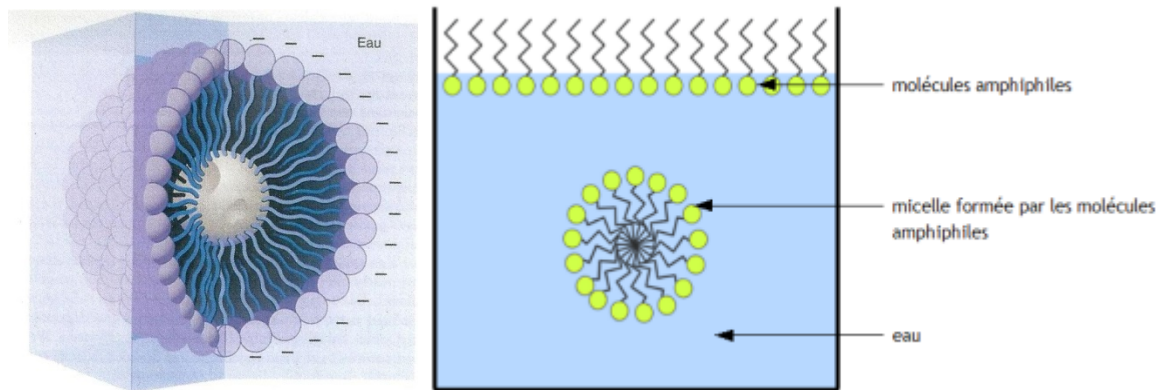


Figure 18. Structure schématique d'un tensioactif (TOGBE et al., 2014).

### 8.1. Formation des micelles

Dans l'eau, très peu d'ions carboxylates du savon sont isolés. Ils forment plutôt des films à la surface de l'eau. La partie polaire, hydrophile, se trouve dans l'eau et la chaîne carbonée, hydrophobe, se trouve dans l'air. Ce film peut parfois contenir de l'air ce qui explique la formation des bulles de savon (Figure 19).



**Figure 19. Disposition des molécules de savon dans l'eau et formation des micelles (TOGBE et *al.*, 2014).**

Si la concentration en ions carboxylate augmente, lorsque la surface du liquide est entièrement recouverte d'un film, les autres ions carboxylate pénètrent dans l'eau et s'unissent entre eux. Les parties hydrophobes se regroupent et se resserrent entre elles de manière à s'isoler de l'eau, les parties hydrophiles étant dirigées vers l'extérieur. On obtient alors des micelles (SPITZ, 2009), (Figure 19, ci-dessus).

### 8.2. Propriétés détergentes

**Détergent :** Substance qui permet d'éliminer les graisses et autres salissures à la surface des matériaux. Supposons une salissure grasse à la surface d'un tissu. En présence d'un savon en solution aqueuse, elle s'entoure d'ions carboxylate dont la partie lipophile se trouve dans la salissure, et la partie hydrophile dans l'eau (Figure 20. a et b).

Ce phénomène contribue à arracher la salissure, conjointement à une action mécanique d'agitation ou de brossage (Figure 20. c).

La graisse est alors piégée dans des micelles pour être ensuite évacuée grâce aux eaux de rinçage (SPITZ, 2009).

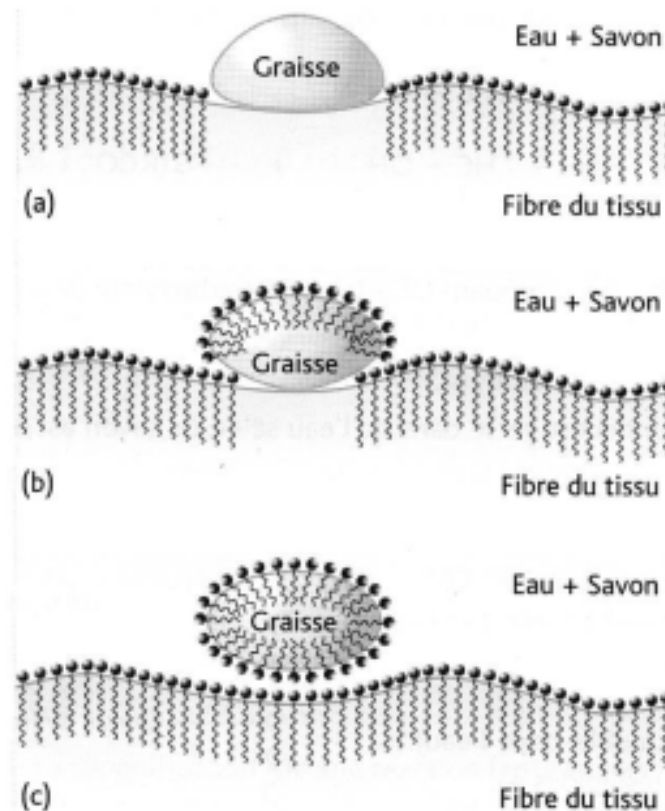


Figure 20. Phénomène de détergence (TOGBE et *al.*, 2014).

## 9 Indices techniques

### 9.1. Le surgraissage

Surgraisser un savon est très important, c'est le surgraissage qui va faire en sorte que le savon sera moins agressif pour la peau. En effet à la surface de la peau il y a un film hydrolipidique (FHL) composé d'eau et de sébum. Il protège la peau des agressions extérieures en faisant barrière, il joue aussi un rôle d'anti-déshydratant, puisque l'eau est retenue dans les cellules grâce au film de gras.

Il est courant de sur graisser un savon entre 5 et 10% avec des huiles plus onéreuses, comme les huiles de jojoba et d'avocat par exemple, dont on souhaite conserver au mieux les propriétés en ne les ajoutant qu'une fois la saponification bien avancée. La présence de telles huiles en excès limite le dessèchement cutané dû à l'usage du savon et constitue en même temps une marge de sécurité permettant de s'assurer d'une utilisation complète de la soude à l'issue de processus de saponification.

En même temps que les huiles de surgraissage, vous pouvez encore ajouter à la pâte un certain nombre d'additifs qui améliorent les performances du savon, sa couleur ou son odeur : colorants (argiles), huiles essentielles, conservateurs (acides lactique et critique), agents hydratants (miel), agents anticalcaires (acide critique), filmogène et durcisseur (cire d'abeille) etc. La quantité de chacun de ces additifs ne devrait pas dépasser le 2% du poids des huiles (WATERVAL, 2011).

## 9.2. Le pH du savon

Avec un pH voisin de 10, le savon est nettement basique et perturbe incontestablement l'acidité de la peau (dont le pH est environ 5,5). Dans la pratique toutefois, on constate, à de rares exceptions près, que le pH de la peau se rétablit assez vite et que les irritations cutanées causées par le caractère basique des savons sont peu fréquentes.

A l'inverse, les savons à base de dérivés du pétrole présentent un pH généralement plus proche de celui de la peau. Par contre, eux aussi ont leur inconvénient : leur pouvoir détergeant est souvent tellement puissant qu'ils assèchent la peau et ne sont finalement pas plus "doux" à l'usage que les savons classiques.

La littérature publie plusieurs valeurs du pH de la peau, toutes dans la gamme acide mais avec un éventail s'étalant de pH 4 à 7. Les valeurs obtenues varient :

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

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

**Tableau 2. Indice d'irritation et Ph des savon testés (BARANDA et al., 2002).**

Nom de la marque	Irritation	pH
Aderm	1.4	6.44
Avecyde	3.3	3.61
Avène	2.5	6.94
Cetabhil	1.3	7.72

Dove white	0.2	7.53
Dove baby	1.1	7.0
Dove (liquide)	1.3	7.0
Dove pink	1.4	5.16
Johnson's baby	3.1	7.23
Lux avec glycérine	3.2	12.38
Nivea baby creamy	3.4	12.35
Nivea bath care	3.3	12.21
Oilatum	4.5	10.26
Naturel oilatum	4.1	10.01
Zest neutral	4.2	9.85
Zest citrus sport	3.5	9.75
Zest herbal	3.7	9.97
Zest agua	4.9	9.89
Palmolive green	3.7	10.18
Palmolivebotanicals	4.1	10.38
Palmolivebotanicals/camomile	3.4	10.13
Camyclassic	3.2	10.38
Camy gala	5.2	10.36
Camy soft	5.4	10.26

### 9.3. Indice d'iode

L'indice d'iode permet de mesurer le degré d'insaturation d'une graisse.

- Plus l'indice d'iode d'une huile est élevé, plus cette huile aura tendance à rancir et plus le savon qu'elle produira sera mou.
- Plus l'indice d'iode d'une huile est bas, plus cette huile sera stable et plus le savon qu'elle produira sera dur. Valeurs conseillées : 41 – 70 (PORE, 1992).

### 9.4. Indice de saponification

L'indice de saponification d'une huile/beurre. Représente la masse de potasse (exprimée en mg) nécessaire pour saponifier 1g de cette huile/beurre. Pour obtenir l'équivalent en soude, il faut diviser la valeur renseignée pour le KOH par 1,4025.

La connaissance des indices de saponification des différentes huiles d'un mélange permet de calculer la quantité de soude/potasse nécessaire pour saponifier une quantité donnée du mélange (PORE, 1992).

Ainsi, pour saponifier 1 Kg du mélange suivant :

- graisse de coco 25% ;
- huile d'olive 55% ;
- beurre de Karité 20% ;

Il nous faudra :  $(184 \times 0,25) + (135 \times 0,55) + (128 \times 0,20) = 145,85$  g de soude.

## **10 Impact écologique :**

### **10.1. Impact écologique à la fabrication :**

Même si elle est réalisée artisanalement, la fabrication du savon n'a pas sans impact sur l'être humain et la nature : biens qu'elle soit pratiquée depuis des millénaires.

L'emploi d'alcali n'est pas anodin. La lessive de soude est à éviter dans la mesure où elle émane d'un processus industriel polluant .mais la fabrication artisanale de lessive de potasse n'est pas sans conséquences : elle consiste à concentrer fortement la potasse, substance hautement corrosive qui produit de graves brûlures. Cette lessive est un produit polluant qu'il faut manier avec précaution. Lors de la saponification, elle est transformée et le savon n'est pas plus aussi corrosif. Il faut cependant prendre garde que si l'on met trop de lessive par rapport au corps gras, le savon obtenu et le liquide résiduel contiendront encore beaucoup de potasse et seront très corrosif. En cas de doute, il faut mieux diluer à grande eau avant de déverser dans la nature ou tuyauteries (SALAGER, 2002).

### **10.2. Impact écologique à l'utilisation :**

- pour les humains : il faut toujours veiller es ce que le savon obtenu ne soit pas trop corrosif, il faut donc l'utiliser avec précaution. Si le savon est gras, il n'y a pas de risque mais il lavera moins bien.
- pour la nature : le savon n'es pas un produit naturel, il est le résultat d'un processus chimique que l'on provoque .bien qu'il soit biodégradable et plus satisfaisant que les détergents dits de synthèse, il reste un détergent chimique à utiliser avec retenue.

## **11. Notion de rémanence**

Pour un antiseptique la rémanence se rapporte à un effet antibactérien persistant sur la peau ou la muqueuse après son application, ou la durée pendant laquelle il continue à exercer une action.

Pour être plus précis, la rémanence peut concerner la durée pendant laquelle l'antiseptique va continuer à être actif sans qu'il soit nécessaire de renouveler son application. Une rémanence élevée peut parfois être associée à une plus grande toxicité.

Pour qu'un produit ait une action rémanente il faut qu'il reste présent sur la peau ou dans les couches supérieures cutanées après son application et séchage.

De fait, certains antiseptiques, persistant à la surface de la peau après application, présentent une rémanence. Il s'agit :

- de la chlorhexidine: la rémanence de la chlorhexidine aqueuse ou alcoolique varie de 1 à 4heures selon les études,
- de la PVP-I. La polyvinylpyrrolidone : est un polymère sans activité antiseptique qui a pour rôle de transporter l'iode (substance active) et de la libérer progressivement. Son affinité vis-à-vis des membranes cellulaires explique sa rémanence. La rémanence de la PVP-I alcoolique à 5% après une application cutanée est au moins de 3h (TRAORE et *al*, 2004). D'autres antiseptiques, au contraire, n'ont aucune rémanence comme l'éthanol dont l'action disparaît immédiatement dès son évaporation (GAUTIER, et *al.*, 2013).

## Chapitre 2. Huiles essentielles du citron (*Citrus limon*)

### 1. Généralités sur le citron (*Citrus limon*) :

#### 1.1. Le citron, quelques mots d'histoire :

L'origine géographique du citron se situerait aux confins de la Chine et de l'Inde, vraisemblablement au Kashmir, il y a environ 3000 ans. Il est produit en Asie depuis très longtemps, les premières traces de culture, en Chine, datent de 2500 ans. Quittant sa région originelle, il voyage sur la route de la soie jusqu'au Moyen-Orient.

À l'époque, le citron n'était pas un citron jaune ou vert, mais plutôt un cédrat (*Citrus medica*), ancêtre du citron. Il est possible que le citron que nous connaissons aujourd'hui provienne d'un mélange entre un cédratier et un bigaradier (COTTIN, 2002).

Du 1<sup>er</sup> au 3<sup>ème</sup> siècle, le citron est connu des Grecs, des Romains et des Arabes. Il est utilisé à cette époque uniquement pour ses vertus thérapeutiques. On le retrouve dans les écrits de Pline l'Ancien, célèbre botaniste romain, il est également prescrit par les médecins comme Athénée de Naucratis. D'ailleurs l'empereur Néron, craignant d'être empoisonné, en consommait très régulièrement.

Au 9<sup>ème</sup> siècle, les Arabes répandirent le précieux fruit en Tunisie, en Espagne et en Provence. Au 10<sup>ème</sup> siècle, Avicenne, grand médecin et philosophe perse, prescrit le citron pour lutter contre la fièvre et comme antipoison. Une légende égyptienne raconte que deux malfaiteurs furent livrés aux serpents, l'un mourut et l'autre survécut car il avait mangé un citron. Au 12<sup>ème</sup> siècle, les croisés introduisent le citron dans les pays où parties d'Europe que les Arabes n'avaient pas conquis.

Il continuera ensuite à voyager avec Christophe Colomb (comme de nombreux autres produits) pour atteindre Haïti et la République Dominicaine en 1493. À la même époque, les portugais commencent la culture de l'agrumes au Brésil. Il finit sa conquête du monde par la Floride au 16<sup>ème</sup> siècle, état américain qui reste un grand producteur de citron (COTTIN, 2002).

#### 1.2. Description de l'arbre :

Le citronnier est un petit arbre épineux à feuilles persistantes, atteignant 3 à 6 m de hauteur, à cime étalée et peu dense, au feuillage vert clair (Figure 21). Les feuilles composées, unifoliolées, alternées, de formes variables, lancéolées et elliptiques, à bord denticulé, de taille très variable de 5 à 10 cm. Les fleurs sont blanches et odorantes (CLEMENT, 1981). Le fruit est de forme ovale, avec un mamelon plus au moins apparent à leur extrémité. La peau fine est colorée en jaune à maturité du fruit ; elle est pourvue de nombreuses glandes oléifères

renfermant des essences. La pulpe, de coloration jaune ou verdâtre, est généralement riche en acide citrique, ce qu'il lui donne sa saveur acide (BLANCKE, 2001).



Figure 21. Plante de *Citrus limon* (KÖHLER, 1897).

### 1.3. Composition du fruit :

Comme tous les agrumes, le citron est un fruit très juteux renfermant 90% d'eau, fortement acide (pH inférieur à 3). L'acidité est due essentiellement à l'acide citrique accompagné de faibles quantités d'acides malique, caféique et férulique. Le fruit du a une haute teneur en vitamine C (40 à 50 mg/100g) et d'un large éventail de vitamines du groupe B avec des quantités considérables de flavonoïdes (naringosides et hésperidosides). La teneur de ce fruit en glucides est faible mais les fibres (cellulose, hémicelluloses et pectines) représentent 2,1% du poids total. La teneur en protéines ne dépasse pas 1g/100g. Diverses substances minérales ont été identifiées dans le citron à une concentration de 0,5g/100g dont le potassium est le minéral le plus abondant (Tableau 3), (VALNET, 2001).

L'arôme du citron résulte de ses huiles essentielles (HE) abondantes dans les vacuoles de l'écorce; il s'agit d'un mélange de limonène, du citral, du citronnellal et des coumarines (LECLERC, 1984).

**Tableau 3. Composition biochimique moyenne du citron (pour 100g de fruit frais)**  
(SOUCI *et al.*, 1996).

Composition	Teneur
Eau	90,20 g
Glucides	3,16 g
Protéines	0,70 g
Lipides	0,60 g
Acides organiques	4,88 g
Fibres alimentaires	0,50 g
Les vitamines	51,26 mg
Les minéraux	211,95 mg
Apports énergétiques	36,48 K Calories

## 2. Généralités sur les huiles essentielles

### 2.1. Historique :

Le terme «huile essentielle» a été inventé au 16<sup>ème</sup> siècle par le médecin suisse Parascelsus vonhhenheim afin de désigner le composant actif d'un remède naturel. Il existe aujourd'hui approximativement 3000 huiles essentielles, dont environ 300 sont réellement commercialisées, destinées principalement à l'industrie des arômes et des parfums (EL-KALAMOUNI, 2010).

Les huiles essentielles sont des mélanges de composés lipophiles, volatils et souvent liquides, synthétisés et stockés dans des structures cellulaires spécialisées (cellules à huile essentielle, poils sécréteurs, canaux sécréteurs). Ces Huiles sont responsables de l'odeur de la plante et vont servir de signaux chimiques permettant à la plante de contrôler ou réguler son environnement et assurer leur ultime défense (DEANS et WATERMAN, 1993; RAHILI 2002; TENSCHER *et al.*, 2005). L'utilisation par l'homme des plantes aromatiques et donc des huiles essentielles est très ancienne et assez universelle; on s'en sert traditionnellement pour se soigner, se détendre, aromatiser la nourriture et conserver les aliments.

Les huiles essentielles résultent d'une distillation et sont donc des substances très concentrées dont l'action est supérieure aux autres formes phytothérapeutiques (tisanes, gélules, eaux florales,...).

Une huile essentielle contient en moyenne 75 molécules actives différentes, tandis que, dans le médicament de synthèse, on ne peut évaluer les interactions que de trois molécules (ZAHALKA, 2010).

## 2.2. Définition des huiles essentielles

La définition retenue, très proche de celle de la norme ISO 9235, est celle adoptée par la commission de la pharmacopée européenne: «Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition». (AFNOR, 1986 et AFSSAPS, 2008).

## 2.3. Propriétés physico-chimiques

Autrefois, les essences étaient appréciées pour leurs propriétés organoleptiques (odeur, goût, couleur et aspect) vu l'usage qui en était fait comme matières aromatisantes et parfumantes. Aujourd'hui, les propriétés physico-chimiques sont exigées pour leurs évaluations commerciales. Malgré leurs différences de constitution, les huiles essentielles possèdent en commun un certain nombre de propriétés physiques:

- ◆ elles sont généralement liquides à température ordinaire;
- ◆ elles sont volatiles et entraînaibles à la vapeur d'eau;
- ◆ elles sont généralement incolores ou jaune pâle lorsqu'elles viennent d'être préparées. Cependant, on rencontre quelques-unes d'entre elles qui sont colorées comme l'essence de cannelle, d'absinthe et de camomille qui sont respectivement colorées en rouge, vert et bleu;
- ◆ elles sont plus légères que l'eau. Il existe toutefois des huiles plus lourdes comme par exemple les essences de cannelle et de girofle. Leur densité varie de 0.8 à 1.08, leur température d'ébullition de 160°C à 240°C;
- ◆ elles sont peu solubles dans l'eau mais lui communiquent leur odeur;
- ◆ elles sont solubles dans la plupart des solvants organiques et dans les huiles fixes;
- ◆ elles ont des indices de réfraction élevés et elles sont le plus souvent optiquement actives car elles contiennent des molécules asymétriques;
- ◆ elles se caractérisent par des indices chimiques qui permettent d'évaluer approximativement la quantité de fonctions chimiques (acide, ester, alcool...) présente dans les composants de l'essence (BRUNETON, 1987; EL ABED et KAMBOUCHE, 2003, CATIER et ROUX, 2007).

## 2.4. Composition chimique

La composition chimique des huiles essentielles est généralement très complexe d'un double point de vue, à la fois par le nombre élevé de constituants présents et surtout par la diversité considérable de leurs structures. En effet, elles comprennent deux classes de composés caractérisés par des origines biogénétiques bien distinctes.

Le groupe des terpénoïdes, d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane d'autre part. IL existe également d'autres corps qui entrent en faible proportion dans la constitution de certaines huiles essentielles (acides organiques, esters et autres...) (RAHILI, 2002; EL ABED ET KAMBOUCHE, 2003).

Jusqu'à présent, plus de 3000 constituants ont été isolés à partir des huiles essentielles. La plupart d'entre eux sont des carbures monoterpéniques acycliques ou cycliques, des aldéhydes et des alcools monoterpéniques, des cétones et des époxydes monoterpéniques. On rencontre également des hydrocarbures sesquiterpéniques, des alcools sesquiterpéniques, des cétones et des époxydes sesquiterpéniques.

Les composés volatils contenant du soufre et/ou de l'azote, comme ceux présents dans le poireau ou la moutarde, sont parfois assimilés à des huiles essentielles.

La composition d'une huile essentielle est en général très complexe. Les méthodes analytiques modernes rendent possibles, la détection, l'identification et la quantification de plus d'une centaine de constituants pour une même huile essentielle (TENSCHER *et al.*, 2005).

## 2.5. Localisation et lieu de biosynthèse de l'huile essentielle de Citrus limon

Dans les fleurs de plantes du genre Citrus, les poches sécrétrices se situent dans le parenchyme des pétales, sous l'épiderme. Le fruit du citron se compose de l'épicarpe, l'endocarpe et du mésocarpe. Ce dernier comprend l'albédo et le flavédo qui est une zone colorée contenant les poches schizolysigènes réparties de façon très irrégulière (Figure 22), (FERHAT *et al.*, 2010).

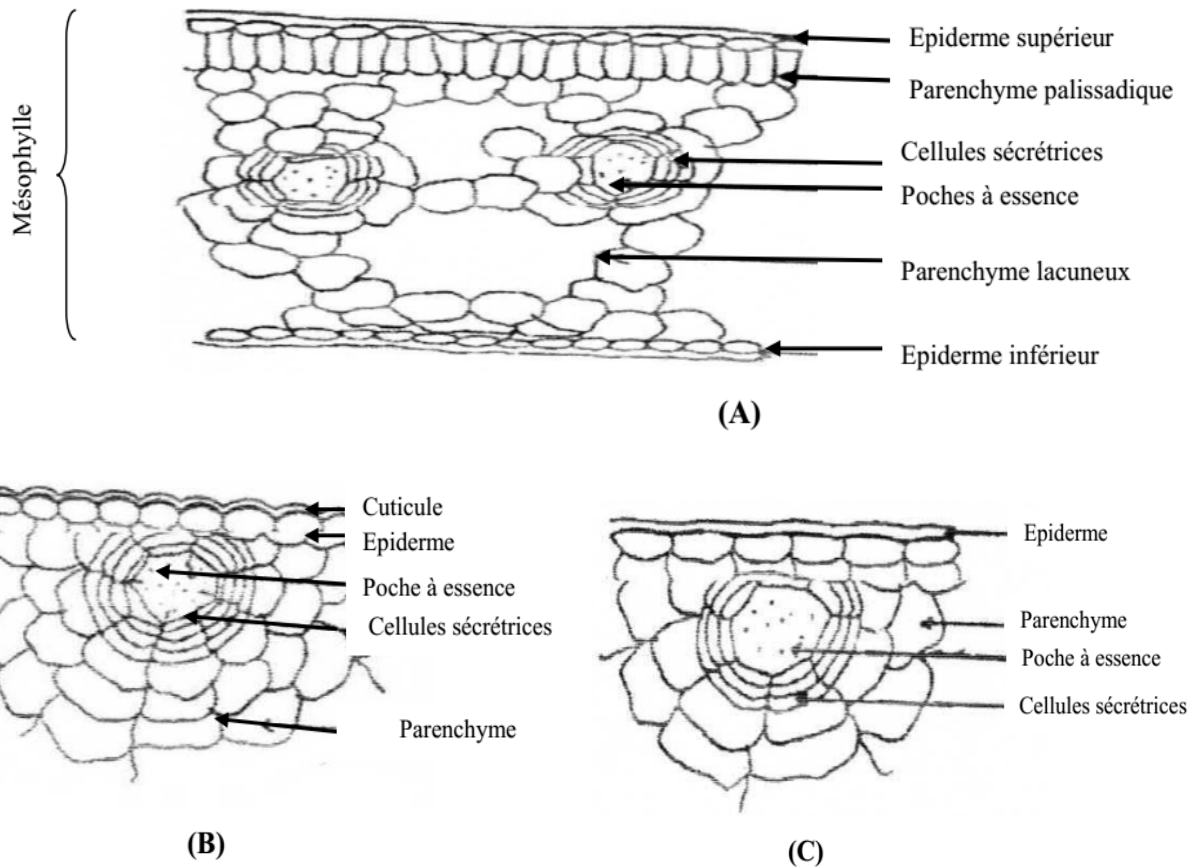


Figure 22. Poches sécrétrices des huiles essentielles des *Citrus* (FERHAT *et al.*,2010).:

- (A) dans feuilles,
- (B) dans les flavédo,
- (C) dans les pétales

Les trichomes glandulaires sont les sites primaires de la biosynthèse d'huile essentielle. Les plantes qui manquent de telles structures spécialisées synthétisent et amassent seulement des traces de monoterpènes.

## 2.6. Méthodes d'extraction

### 2.6.1. La distillation

C'est le procédé le plus ancien et le mieux adapté pour extraire les essences des végétaux aromatiques. La méthode est basée sur la distillation des composés volatils et de l'eau simultanément à une température inférieure à 100°C sous pression atmosphérique normale. En conséquence, les produits aromatiques sont entraînés par la vapeur d'eau sans subir d'altérations majeures. Il existe précisément trois différents procédés utilisant ce principe: l'hydrodistillation, l'hydro diffusion et l'entraînement à la vapeur d'eau (PIOCHON, 2008).

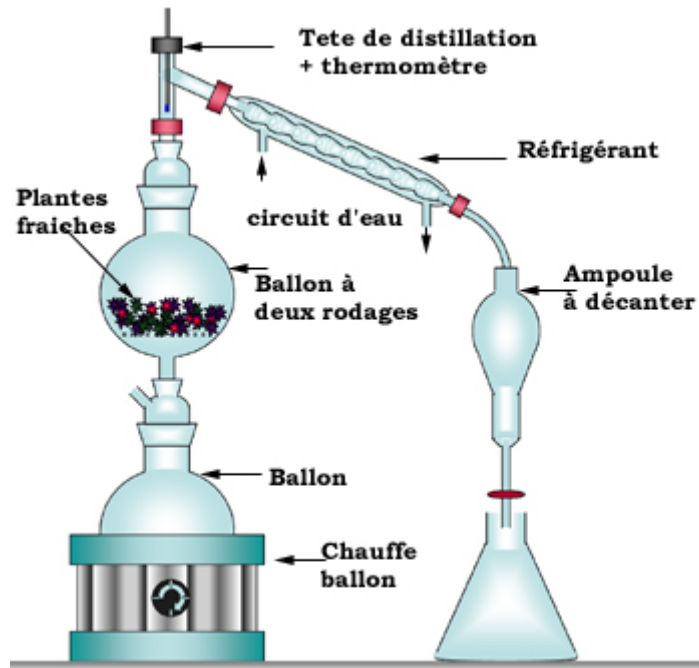


Figure 23. Dispositif de l'entraînement à la vapeur d'eau.

### 2.6.2. L'expression à froid

Cette technique s'adresse essentiellement aux agrumes (citron, pamplemousse, oranger,...). Elle consiste à presser mécaniquement les zestes de ces agrumes pour extraire des poches sécrétrices une substance appelée: essence. L'expression des citrons, par exemple, s'effectue à froid: les zestes sont râpés sous jet d'eau, l'émulsion eau et essence est séparée par centrifugation; on parle ainsi d'essence de citron et non d'huile essentielle de citron car les agrumes ne peuvent être distillés. La conservation de cette essence s'effectue au frais, car la chaleur déstabiliserait celle-ci (ZAHALKA, 2010).



Figure 24. Dispositif de l'extraction par expression à froid

## 2.7. Production mondiale des huiles essentielles

La production mondiale en huiles essentielles est en nette évolution. Elle atteint plus de 350000 Tonnes ces dernières années. La production mondiale en huiles essentielles du citron occupe une place non négligeable; elle vient en 3<sup>ème</sup> rang après celles de l'orange et de la menthe japonaise avec 9200 tonnes. Les principaux producteurs sont l'Argentine, l'Italie et l'Espagne (tableau 4), (PERFUMER et FLAVORIST, 2009).

**Tableau 4. Production mondiale des huiles essentielles en 2008  
(PERFUMER et FLAVORIST, 2009).**

Huiles essentielles	Production (t)	Principaux pays producteurs
Huiles d'orange	51000	USA, Brésil, Argentine.
Huile de menthe japonaise	32000	Inde, Chine, Argentine.
Huiles du citron	9200	Argentine, Italie, Espagne
Huiles de l'eucalyptus	4000	Chine, Inde, Australie, Afrique de sud
Huile de la menthe poivrée	3300	Inde, USA, Chine
Huile du clou de girofle	1800	Indonésie, Madagascar
Huile de la citronnelle	1800	Chine, Sri Lanka
Huiles de la menthe verte	1800	USA, Chine
Huiles du bois de cèdre	1650	USA, Chine
Huile <i>Litsea cubeba</i>	1200	Chine
huile du patchouli	1200	Indonésie, Inde
Huile de la lavande	1100	France
Huile de <i>Corymbiacitriodora</i>	1000	Chine, Brésil, Inde, Vietnam

## 2.8. Domaines d'application et intérêt phytothérapie :

Les H.E de Citrus sont utilisées pour la préparation des parfums, les savons, désodorisant, les bougies parfumées, en industries alimentaires comme aromatisants, en confiseries, pâtisseries, les glaces. En aromathérapie avec les essences d'H.E de Citrus, il est recommandé pour traiter : insomnies, anxiété, calme les palpitations, antirides, vasodilatatrice.

L'H.E de Citron est employée comme désaltérant, possédant des propriétés antimicrobiennes, tonique, stimulante, stomachique, carminative, diurétique, entretien de la peau et soins, obésités, antispasmodique, fébrifuge, coliques, états fiévreux, spasmes (BARDEAU, 2009)

### **2.9. Toxicité des huiles essentielles**

L'utilisation des huiles essentielles du citron extraites soit par hydrodistillation soit par expression à froid ne présente aucun risque de toxicité, ni aiguë ni chronique (ROBERT et LOBSTEIN, 2005).

Les huiles essentielles contenant des phénols, tels que le thym, la cannelle et le clou de girofle, devraient être employées avec prudence. La toxicité du foie peut se produire si les huiles essentielles sont utilisées à de fortes doses pendant un temps prolongé. Les cétones contenues dans l'armoise, la sauge et les huiles d'hysope peuvent ainsi causer ce genre de problème (BRUNETON, 1993 ; COUDERC, 2001).

## Chapitre 3. Matériels et méthodes

### Objectifs du travail

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire de biochimie et au laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Mostaganem (Algérie). Notre objectif était d'extraire l'huile essentielle du citron (*Citrus limon*) d'une part. D'autre part; de synthétiser un savon additionné de cette huile et enfin étudier ces propriétés physico-chimiques et sa rémanence.

### 1<sup>ère</sup> Partie : Extraction de l'huile essentielle du citron

#### 1. Matériel végétal

Le produit ayant servi à l'extraction des huiles essentielles est la partie écorce (zeste) du citron (*Citrus limon*). Les fruits ont été achetés du marché de gros (souk Elil), wilaya de Mostaganem. Le fruit utilisé se caractérise par une forme ovale, de couleur jaune, l'écorce est molle, moyennement épaisse, son épaisseur est d'environ 2 mm. Le poids moyen d'un fruit du citron employé est de 200 g le poids moyen de son zeste est de 33 g (Photo 1).



Photo 1. Matériel végétal utilisé.

#### 2. Extraction de l'huile essentielle du citron (*Citrus limon*)

##### 2.1. Principe d'extraction :

L'extraction des huiles essentielles à partir du zeste de citron frais a été effectuée par la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau décrite par EL HAIB, 2011.

Cette technique ne met pas en contact direct de l'eau et la matière végétale à traiter. La vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-dessus d'une grille. Durant

le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique : l'huile essentielle. L'absence de contact direct entre l'eau et la matière végétale, puis entre l'eau et les molécules aromatiques évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

## 2.2. Technique d'extraction :

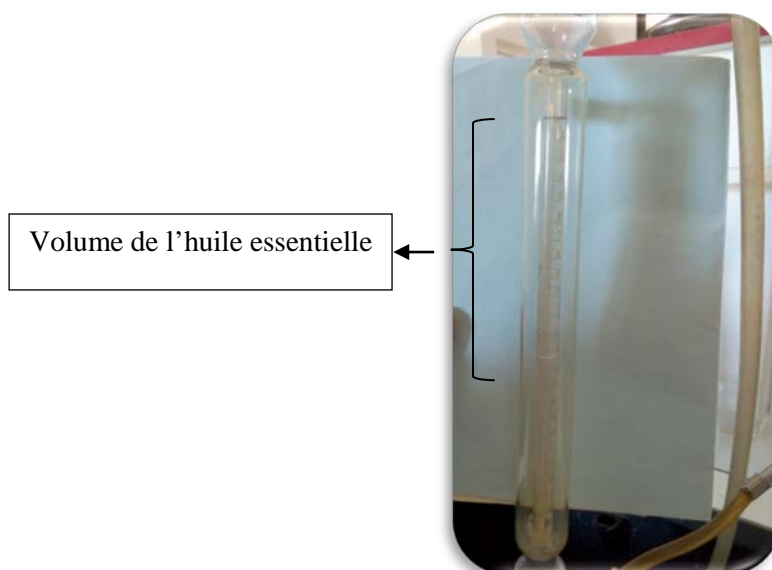
Le citron utilisé pour l'extraction des huiles essentielles a préalablement subi un lavage, une élimination des taches et un essuyage.

L'extraction est faite par un montage d'entraînement à la vapeur d'eau (Photo 2); la matière végétale constituée de zeste de citron râpés est introduite dans une cocotte de 3 l contenant le solvant d'extraction (eau distillée). L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 3 heures.



**Photo 2. Dispositif utilisé pour l'extraction de l'HE du citron.**

L'eau et l'huile se séparent par différence de densité (Photo 3). L'huile obtenue est conservée dans un réfrigérateur à une température de 4°C, dans des flacons en verre brun en vue de son incorporation dans le savon.



**Photo 3. Ampoule à décanter.**

### 2.3. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la biomasse végétale traitée (AFNOR, 1986). Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante :

$$R = (P_H / P_P) \times 100$$

**R** : rendement en huile essentielle en pourcentage (%).

**P<sub>H</sub>** : poids de l'huile essentielle en gramme.

**P<sub>P</sub>** : poids de la biomasse végétale en gramme.

## 2ème partie : Synthèse du savon

### 1. Principe de la saponification

Le savon est le produit de la réaction d'une saponification. Au cours de cette réaction, des corps gras (graisses ou huiles) sont hydrolysés en milieu alcalin par une base, généralement de la potasse (KOH) ou de la soude (NaOH), à une température comprise entre 80 et 100 °C. La température élevée sert à accélérer la réaction de saponification. La saponification des corps gras produit du glycérol et un mélange de carboxylates (de sodium ou de potassium) qui constitue le savon.

### 2. Technique de la synthèse du savon

*1<sup>ère</sup> étape : chauffage à reflux*

Dans un ballon de 250 ml, on place un barreau aimanté, puis on verse 20 ml d'huile d'olive, 2.5 ml de glycérine, 10 ml de NaOH à 7 mol/l et 20 ml d'une solution d'éthanol à 95°.

On met en place le réfrigérant à eau et on chauffe à reflux le mélange réactionnel durant 30 min (Photo 4).



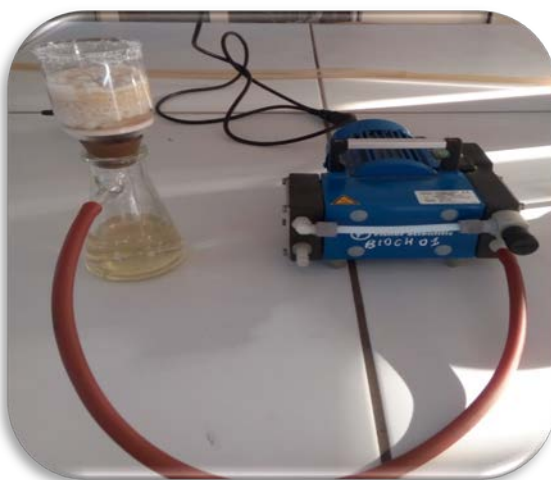
**Photo 4. Dispositif de chauffage à reflux.**

***2<sup>ème</sup> étape : le relargage***

Au bout de 30 min, on arrête le chauffage et on laisse refroidir. On verse alors le mélange dans un bécher contenant environ 100 ml de solution froide de chlorure de sodium à 20%.

***3<sup>ème</sup> étape : filtration sur Büchner***

On filtre le mélange obtenu sur un filtre Büchner (Photo 5) et on rince le savon à l'eau distillée froide plusieurs fois afin d'éliminer l'excès de NaOH.



**Photo 5. Dispositif de filtration du savon.**

**3. Incorporation de l'HE du citron**

L'essence de citron est incorporée dans le savon obtenu à raison de 1.5% (v/p). L'HE est ajoutée au besoin à la pâte du savon obtenue (Photo 6).



**Photo 6. La pâte du savon obtenue.**

#### **4. Moulage et séchage**

La pâte du savon est versée dans des moules (Photo 7), puis mise à sécher pour la durcir pendant plusieurs jours.

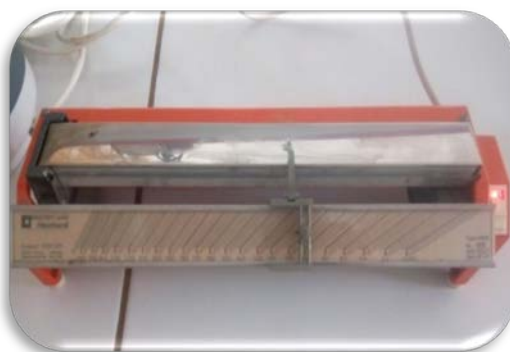


**Photo 7. Moulage de la pâte du savon.**

### **3ème Partie : Étude des propriétés du savon obtenu**

#### **1. Détermination du point de fusion**

Le point de fusion est la température à laquelle la substance est complètement fondue ainsi qu'en témoigne la disparition de la phase solide et la transparence totale du liquide obtenu. Le principe repose sur le chauffage d'un tube capillaire contenant une prise d'essai du savon synthétisé sur une plaque chauffante et la notation de la température de fusion. Le point de fusion de savon synthétisé est déterminé à l'aide d'un banc de Koffler (Photo 8).



**Photo 8. L'appareil de banc de Koffler.**

On note la température à laquelle la pâte de savon devient complètement transparente ; cette température constitue le point de fusion.

## **2. Détermination du pH**

Pour la mesure du pH, on prépare une solution aqueuse par l'ajout de 0,5 g de savon synthétisé et 150 ml d'eau distillée. L'ensemble est soumis à une agitation constante pendant 2 minutes ; à l'aide d'un agitateur (Stuart, modèle UC 152). Le pH est ensuite déterminé à l'aide d'un pH mètre (AD, modèle 1030).

## **3. Détermination de l'alcali libre caustique**

Elle représente l'hydroxyde alcalin NaOH ou KOH non combiné aux acides gras exprimés en grammes pour 100 g de savon (% , P/P). La méthode utilisée est celle de l'éthanol de la Norme Algérienne n° 284 publiée en 1990 (selon la Norme ISO n° 456 du 1973).

On dissout 5 gramme de savon au réfrigérant ascendant dans 100 ml d'alcool à 60 % et l'on précipite à l'aide d'un excès de solution neutre à 10 % de chlorure de baryum. Sans filtrer le précipité qui s'est formé, on titre alors goutte à goutte et en agitant constamment, par l'acide chlorhydrique en présence de phénolphtaléine.

## **4. Détermination du pouvoir moussant du savon dans différents milieux**

Le pouvoir moussant du savon dans différents milieux est estimé par la mesure de taux de mousse formée dans chaque milieu (acide, salin) par apport à un témoin (eau distillée) selon la formule suivante :

$$\text{Taux de mousse [TM (\%)]} = \frac{\text{hauteur de mousse de l}}$$

#### **4.1. En milieu acide**

On prépare une solution savonneuse (S) par la dissolution de 3 g de savon dans 100 ml d'eau distillée dans un tube à vis, on ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution d'acide chlorhydrique (1mmol/l) a 2 ml de la solution S. On bouche le tube, on agite vigoureusement en position horizontale pendant 15 secondes environ. Après 5 min au repos, on mesure la hauteur de mousse.

#### **4.2. En milieu salin**

Dans un tube à vis, on ajoute goutte à goutte 1 ml d'une solution saline de NaCl (30%) à 2 ml de la solution S. On bouche le tube, on agite vigoureusement en position horizontale pendant 15 secondes environ. Après 5 min de repos, on mesure la hauteur de mousse.

### **4ème Partie : Étude microbiologique**

#### **1. Méthode d'évaluation de l'efficacité et la rémanence du savon**

Les objectifs de cette étude ont été de tester l'efficacité bactéricide et la rémanence du savon obtenu. Un protocole expérimental est élaboré en s'inspirant d'autres études réalisées dans le but d'apprécier l'efficacité de différents désinfectants (MARCHETTI et *al.*, 2003; HERRUZOCABRERA et *al.*, 2000; MULBERY et *al.*, 2001; GIROU et LOYEAU, 2002). Les volontaires choisis pour participer aux études étaient des étudiants de l'Université de Mostaganem, âgés de 24 à 25 ans.

Les résultats des expérimentations permettront de calculer la capacité de réduction bactérienne du savon après lavage des mains.

#### **2. Description globale du protocole expérimental**

Le protocole expérimental s'est déroulé en plusieurs étapes : des prélèvements bactériologiques ont été effectués sur les mains de l'opérateur avant et à différents temps après lavage avec le savon synthétisé (1 min, ½ h, 2 h et 4h).

##### **Étape 1. Prélèvements bactériologiques avant lavage**

Un premier prélèvement bactériologique réalisé sur mains non lavées a été effectué afin de connaître la flore cutanée de départ de l'opérateur. Ce prélèvement a servi de valeur de base pour évaluer la capacité d'élimination des bactéries sur la peau par le savon.

Les extrémités distales des phalanges des doigts 2, 3 et 4 (index, majeur et annulaire) de chaquemain ont été apposées 5 secondes sur la gélose de 3 boites de prélèvements, en appuyant légèrement (Photo 9). Ces manipulations se sont déroulées sur une seule journée. Les boites de

prélèvement ont été identifiées : "D" pour la main droite et "G" pour la main gauche (Tableau 5).



**Photo 9. Prélèvement bactériologique avant lavage des mains**

### **Étape 2. Prélèvement bactériologique après lavage.**

Un prélèvement a été réalisé après le rinçage et le séchage des mains, Le protocole expérimentale a été identique pour chaque prélèvement, seuls les temps auxquels les prélèvements étaient effectués différaient (1 minute, ½ heure, 2 heures et 4).

L'opérateur a frotté, avec du savon, chaque zone des 2 mains qui ont été rincées à l'eau courante et laissées sécher.



**Photo 10. Lave les mains**

### Étape 3. Dénombrement des bactéries

A la fin des différentes manipulations, les boîtes de gélose contenant les prélèvements ont été incubées pendant 24 heures à 30°C. A l'issue de cette période, les colonies bactériennes présentes dans chaque boîte ont été dénombrées.

**Tableau 5 : Tableau récapitulatif du déroulement des prélèvements.**

Opérateur	Temps	Bactériologie des mains	
		Droite	Gauche
N°1	Avant lavage	D1	G1
	1 min après lavage	D1 (1min)	G1 (1min)
	½ heure après lavage	D1 (1/2h)	G1 (1/2h)
	2 heures après lavage	D1 (2h)	G1 (2h)
	4 heures après lavage	D1 (4h)	G1 (4h)
N°2	Avant lavage	D2	G2
	1 min après lavage	D2 (1min)	G2 (1min)
	½ heure après lavage	D2 (1/2h)	G2 (1/2h)
	2 heures après lavage	D2 (2h)	G2 (2h)
	4 heures après lavage	D2 (4h)	G2 (4h)
N°3	Avant lavage	D3	G3
	1 min après lavage	D3 (1min)	G3 (1min)
	½ heure après lavage	D3 (1/2h)	G3 (1/2h)
	2 heures après lavage	D3 (2h)	G3 (2h)
	4 heures après lavage	D3 (4h)	G3 (4h)

### 3. Calcul des taux de réduction bactérienne

Après obtention des résultats bactériologiques, le taux de réduction bactérienne (TR) a été calculé de la manière suivante :

$$TR = \frac{\text{nombre d'UFC dans le prélèvement avant désinfection} - \text{nombre d'UFC dans le prélèvement après désinfection}}{\text{nombre d'UFC dans le prélèvement avant désinfection}} \times 100$$

#### **4. Analyse statistique des résultats**

Les analyses statistiques (analyse de la variance, intervalle de confiance de la moyenne) ont été réalisées par le logiciel Microsoft Word " 2007" Les valeurs obtenues sont des moyennes de 3 répétitions.

## Chapitre 4. Résultats et discussions

### 1<sup>ère</sup> partie : Extraction de l'HE de citron

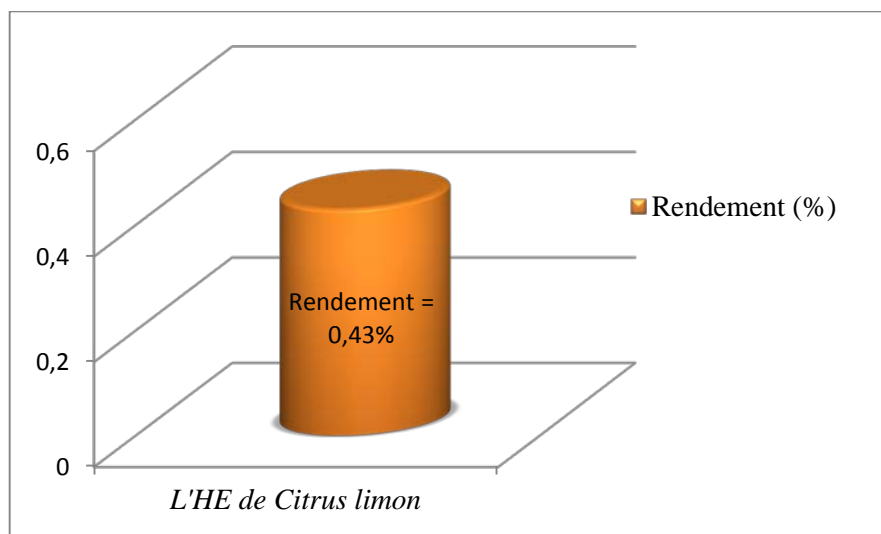
#### 1. Calcul du rendement

L'entraînement à la vapeur d'eau réalisée sur le zeste de citron (*Citrus limon*) a permis l'obtention d'une huile essentielle de couleur jaune pâle, limpide, possédant une odeur caractéristique fraîche de citron (Photo 10). La densité déterminée de l'HE extraite est de 0,852.



**Photo 11. L'huile essentielle de citron (*citrus limon*) obtenue par entraînement à la vapeur d'eau.**

Le rendement d'extraction calculé est de l'ordre de 0,43%, en fonction de la matière végétale fraîche (Figure 25).



**Figure 25. Rendement en HE extraite à partir de citron.**

Le rendement obtenu dans notre expérimentation qui est de 0.43%, est en rapport au rendement obtenu par BLANCO TIRADO *et al.* (1995) et HELLAL (2011) qui valent respectivement 0,19% et 0,7%.

Le rendement de ces métabolites secondaires est différent d'une famille botanique à une autre, d'une espèce à une autre et même entre les plantes de la même espèce. De plus, cette différence de teneur en HES peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le stade de développement et la saison.

Le degré de maturation du fruit influe remarquablement le rendement de l'huile essentielle. BOURGOU *et al.* (2012) ont constaté que le rendement en HE du citron augmente au début puis diminue vers la fin de la maturation.

Les huiles essentielles sont obtenues avec des rendements très faibles (de l'ordre de 1%) ce qui en fait des substances fragiles, rares, et précieuses. Ainsi les différentes techniques d'extraction des huiles essentielles ou extraits aromatiques doivent d'une part, tenir compte de ces caractéristiques et d'autre part, apporter des performances quantitatives satisfaisantes.

D'après le résultat de la densité obtenue (0.851), on peut dire que l'huile essentielle de citron est conforme aux normes internationales. Selon l'association Française de Normalisation, les HE appartenant aux espèces Citrus doivent avoir une densité maximale de 0.876 (AFNOR NF T.75-202).

## **2<sup>ème</sup> partie : Synthèse du savon**

Étant donné que la réaction de saponification est une réaction lente à température ambiante, on augmente la température du mélange réactionnel pour accélérer la réaction. Le chauffage à reflux a permis de condenser les vapeurs des réactifs grâce au réfrigérant à bulles et de les faire retourner à l'état liquide dans le ballon.

L'utilisation de l'éthanol a rendu le mélange réactionnel plus homogène. Il joue un rôle d'émulsifiant : il permet le mélange de l'huile d'olive et la glycérine hydrophobe et de la solution aqueuse de NaOH hydrophile.

Lors de l'étape du relargage, on a versé la solution obtenue dans solution aqueuse de chlorure de sodium froide, elle s'est solidifiée et le savon précipita. Ainsi, on a pu récupérer le savon. On a laissé le savon se durcir pendant quelques jours. La Photo 11, représente le savon obtenu.



**Photo 12. Le savon synthétisé après séchage.**

### **3<sup>ème</sup> partie : Étude des propriétés du savon obtenu**

#### **1. Détermination du point de fusion**

Le point de fusion déterminé pour notre savon synthétisé est de 180°C, cette température permet la transformation totale de savon en liquide non laiteux.

Le point de fusion des savons, même lorsque le sel d'acide gras est unique et purifié, reste assez mal défini, entre 200°C et 250°C, par mesure sur le banc Koffler.

#### **2. Détermination du pH**

L'une des grandes préoccupations de l'heure à propos des savons est celle du pH. Le pH est vérifié une fois que le savon a vieilli de deux semaines à deux mois suivant la méthode de fabrication (HOTANTAI, 1999).

Pour notre savon obtenu, le pH déterminé est de 9.6 à 22°C, qui est un pH basique. Le niveau du pH obtenue est en concordance avec celui obtenue par BARANDA et *al.*, (2002) pour le savon « Zest citrus sport ». (Tableau 2, page...).

La peau humaine est d'un pH d'environ 5,5; soit relativement acide, tandis que l'on évalue le pH moyen des savons à 10. Théoriquement, il apparait logique de croire qu'une telle substance soit irritante pour la peau. Tout ceci pour dire que l'histoire le pH des savons n'est pas encore réglée.

On sait que certains savons à base de dérivés du pétrole ont un pH allant de 7 à 5,5. Par contre, ceux-ci ont un pouvoir détergeant tellement puissant qu'ils assèchent la peau; ils ne sont, par conséquent, pas "doux".

L'incorporation de la glycérine dans notre savon synthétisé, et sa teneur en huiles neutre permet un savonnage en douceur respectant le film hydrolipidique de la peau.

### 3. Détermination de l'alcali libre caustique

L'excès d'alcali doit être évité non seulement dans les savons de toilette et de ménage, mais aussi dans les savons servant au lavage de la laine et de la soie, car l'alcali libre rend rêches les fibres animales, et diminue leur solidité et leur éclat. Les teintureries sur soie ne tolèrent par exemple pas plus de 0,03 % de soude libre, tandis que pour le lavage et le foulage des draps de laine, on permet de 1 à 1 1/2 % (MRCUSSON, 1929).

L'alcali libre caustique déterminé pour notre savon est de 0.28%. Cette valeur indique la quantité minimale de soude caustique présente dans le produit fini. L'élimination de la soude est atteinte, dans notre protocole, par plusieurs rinçages consécutifs à l'eau distillée.

De façon générale, lorsqu'on se réfère aux normes ISO 684-1974, notre savon peut être classé dans la 2<sup>ème</sup> gamme des savons de ménage (leur teneur en alcali libre caustique étant inférieure ou égale à 0,3 %).

De cette faible teneur en alcali libre caustiques décelée dans le savon parfumée à l'HE de citron, on peut prévoir son incapacité à produire des irritations sur une peau normale.

### 4. Détermination du pouvoir moussant de savon dans différents milieux

#### 4.1. En milieu acide

L'ajout de la solution savonneuse au milieu acide (HCl), a permis l'obtention d'un précipité blanc (Photo 12, B) et il n'y avait pas formation de mousse par rapport au témoin (Photo 12, A). Le taux de mousse calculé (TM) est de 0% par rapport au témoin.

Lors de la dissolution du savon dans l'eau, les groupes carboxylate et les ions sodium s'entourent de molécules d'eau et sont dispersés dans la solution : c'est le phénomène de solvation (Figure 26). On obtient des ions hydratés entourés de molécules d'eau.

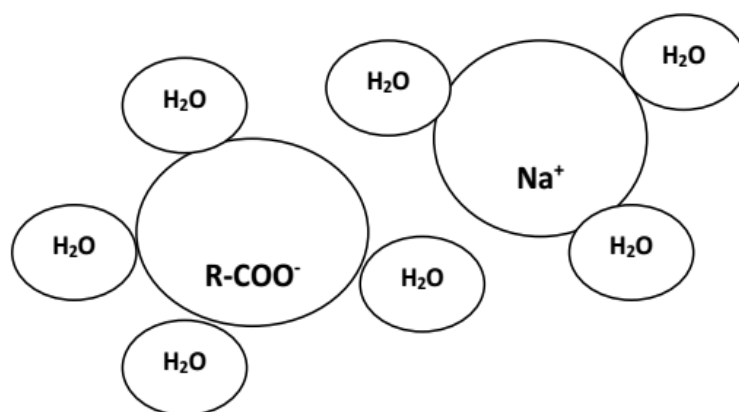
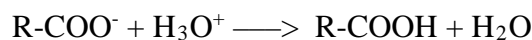


Figure 26. Solvation des ions de savon dans l'eau.

Une solution acide contient des ions  $\text{H}_3\text{O}^+$  qui sont l'acide du couple  $\text{H}_3\text{O}^+/\text{H}_2\text{O}$ . Comme les ions carboxylate sont la base du couple  $\text{RCOOH}/\text{RCOO}^-$ , il se déroulera une réaction acide – basique qui a pour équation :



L'action détergente d'un savon est liée à sa solubilité dans l'eau, c'est-à-dire son pouvoir moussant. Donc un milieu acide n'est pas favorable à l'action du savon obtenu.



**A**                      **B**

**Photo 13. La solubilité du savon.**

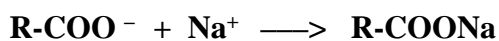
**A. Dans l'eau distillée.**

**B. Dans l'acide chlorhydrique**

#### 4.2. En milieu salin

Le pouvoir moussant du savon dans un milieu salin ( $\text{NaCl}$ ) a largement diminué par rapport à l'eau distillée (Photo 13, B). Le taux de mousse calculé (TM) est de 11.2% par rapport au témoin.

En présence d'ions sodium  $\text{Na}^+$ , les ions carboxylates vont réagir en formant un précipité de carboxylate de sodium, c'est à dire du savon solide qui n'aura aucune action. Cette réaction de précipitation a pour équation :





**A**

**B**

**Photo 14. La solubilité du savon.**

**A. dans l'eau distillée.**

**B. dans le chlorure de sodium.**

Le tableau 6, ci-dessous récapitule les caractéristiques physico-chimiques du savon synthétisé (point de fusion, pH, alcali libre caustique, et taux de mousse dans un milieu acide et un milieu salin).

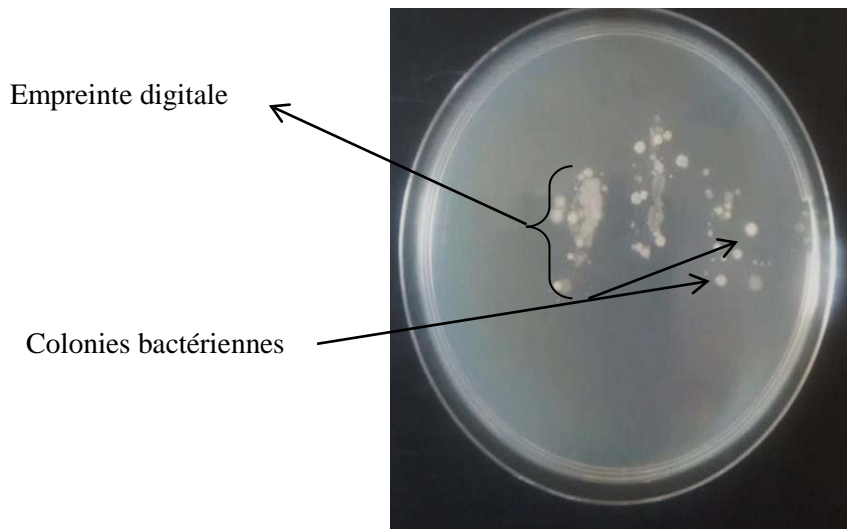
**Tableau 6. Caractéristiques physico-chimiques du savon synthétisé.**

<b>Point de fusion</b>	<b>180°C</b>
<b>pH</b>	<b>9,65</b>
<b>Alcali libre caustique</b>	<b>0.28%</b>
<b>Taux de mousse en milieu acide</b>	<b>0%</b>
<b>Taux de mousse en milieu salin</b>	<b>20%</b>

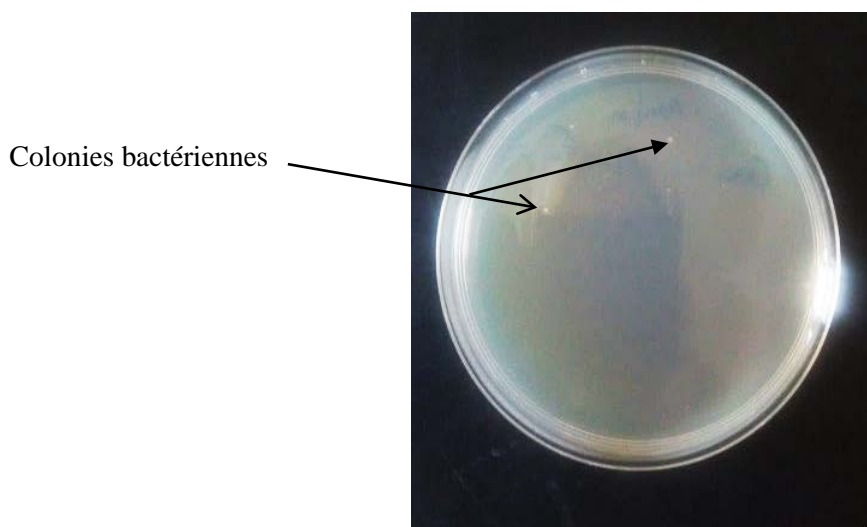
#### 4<sup>ème</sup> partie : Étude microbiologique

Les résultats obtenus des différents prélèvements microbiologiques sont rapportés dans le tableau 7 : des colonies bactériennes ont été dénombrées dans chaque boîte de Pétri, de chaque répétition et pour chaque opérateur et à différents temps.

Les photos 15 et 16 représentent les boîtes de gélose des prélèvements de l'opérateur 1 avant et après lavage avec le savon synthétisé après l'incubation. Les colonies bactériennes sont visibles sur les deux boîtes de prélèvement avant lavage (Photo 15) et après lavage (Photo 16). Les empreintes de doigts laissées par l'opérateur lors du prélèvement sont discernables sur la Photo 15.



**Photo 15. Boîte de gélose D1 après incubation.**  
(D. main droite. Opérateur 1 avant lavage au savon)



**Photo 16. Boîte de gélose D1 (1 min) après incubation.**  
(D. main droite. Opérateur 1, 1 min après lavage au savon)

Tableau 7 : Résultats des prélèvements microbiologiques.

Opérateur	Temps	Dénombrement des colonies (mains droites)		Dénombrements des colonies (mains gauches)	
N°1	Avant lavage	D1	230 colonies	G1	202 colonies
	1 min après lavage	D1 (1min)	5 colonies	G1 (1min)	19 colonies
	1/2 h après lavage	D1 (1/2h)	8 colonies	G1 (1/2h)	20 colonies
	2 h après lavage	D1 (2h)	15 colonies	G1 (2h)	30 colonies
	4 h après lavage	D1 (4h)	20 colonies	G1 (4h)	36 colonies
N°2	Avant lavage	D2	122 colonies	G2	68 colonies
	1 min après lavage	D2 (1min)	30 colonies	G2 (1min)	12 colonies
	1/2 h après lavage	D2 (1/2h)	34 colonies	G2 (1/2h)	20 colonies
	2 h après lavage	D2 (2h)	42 colonies	G2 (2h)	24 colonies
	4 h après lavage	D2 (4h)	66 colonies	G2 (4h)	28 colonies
N°3	Avant lavage	D3	280 colonies	G3	194 colonies
	1 min après lavage	D3 (1min)	2 colonies	G3 (1min)	4 colonies
	1/2 h après lavage	D3 (1/2h)	4 colonies	G3 (1/2h)	25 colonies
	2 h après lavage	D3 (2h)	4 colonies	G3 (2h)	41 colonies
	4 h après lavage	D3 (4h)	15 colonies	G3 (4h)	67 colonies

**D:** pour main droite/ **G:** pour main gauche.

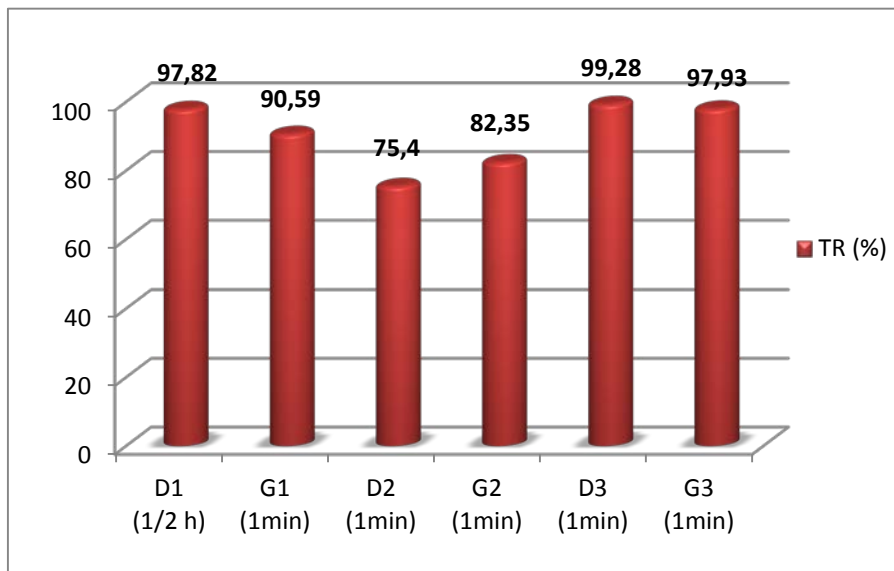
Ce tableau montre bien que le nombre de colonies bactériennes dénombrées avant lavage des mains (soit droite ou gauche) avec le savon synthétisé est largement réduit après lavage et celui-ci pour chaque opérateur et à différents temps.

Les doigts de la main droite, pour l'opérateur 1, l'opérateur 2 et l'opérateur 3, semblaient plus contaminés que ceux de la main gauche. Par exemple, la boîte de gélose D1 contenait 230 colonies or, la boîte de gélose G1 contenait 202 colonies (Tableau 7).

Les résultats des prélèvements bactériologiques réalisés pendant les manipulations ont été très satisfaisants. Ils ont montré qu'après un lavage avec le savon, le taux de réduction bactérienne sur la peau était entre 75,40 et 99,28% de la flore totale avant lavage; et ce une minute après le lavage avec le savon. (Tableau 8 et Figure 27, ci-après)

**Tableau 8. Les taux de réduction bactérienne 1min après lavage au savon synthétisé.**

Opérateur	Prélèvement	Taux de réduction bactérienne (TR)
N°1	D1 (1min)	97,82%
	G1 (1min)	90,59%
N°2	D2 (1min)	75,40%
	G2 (1min)	82,35%
N°3	D3 (1min)	99,28%
	G3 (1min)	97,93%

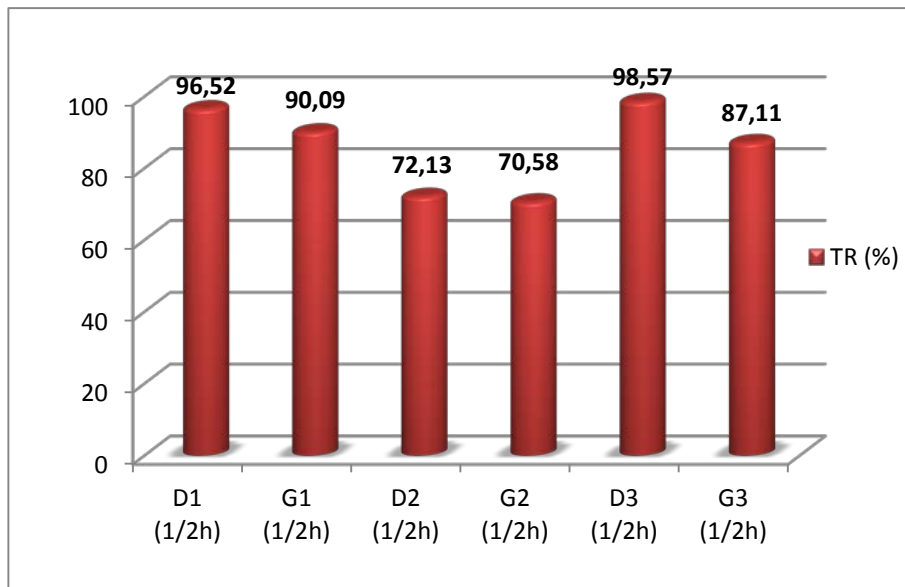


**Figure 27 : Taux de réduction bactérienne (TR) 1min après lavage au savon.**

Pour l'étude de la rémanence du savon synthétisé on a fait des prélèvements bactériologiques aussi après 1/2 heure. Le TR était entre 70,58 et 98.57%. Les résultats obtenus sont illustrés dans le tableau 9 et figure 28, ci-après.

**Tableau 9. Les taux de réduction bactérienne 1/2 h après lavage au savon synthétisé.**

Opérateur	Prélèvement	Taux de réduction bactérienne (TR)
N°1	D1 (1/2 h)	96.52%
	G1 (1/2 h)	90.09%
N°2	D2 (1/2 h)	72.13%
	G2 (1/2 h)	70,58%
N°3	D3 (1/2 h)	98.57%
	G3 (1/2 h)	87,11%

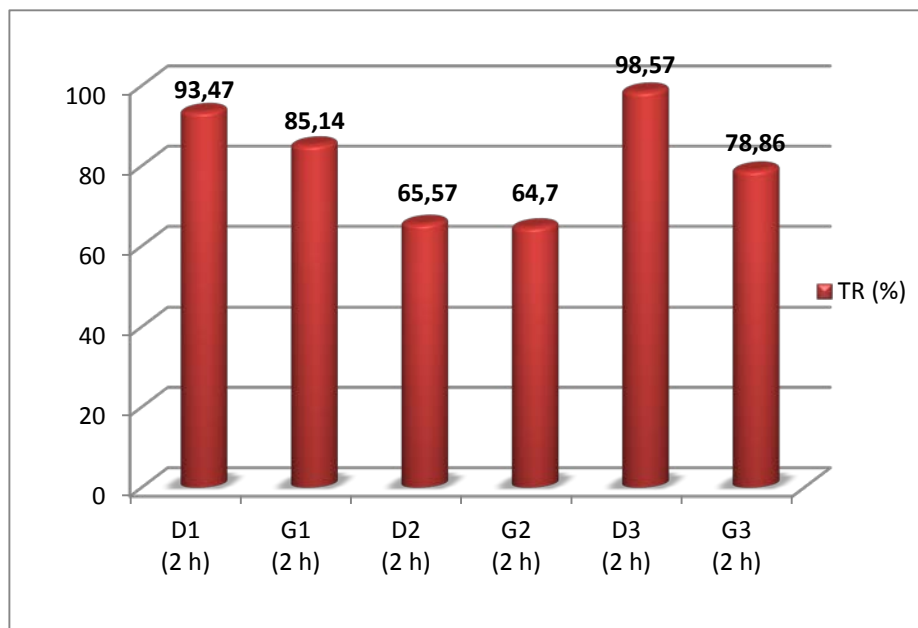


**Figure 28 : Taux de réduction bactérienne (TR) 1/2 h après lavage au savon.**

Les résultats des prélèvements bactériologiques après 2 heures, le taux de réduction bactérienne sur la peau était entre 64,70 et 98,57% de la flore totale avant lavage (Tableau 10 et Figure 30, ci-dessous).

**Tableau 10. Les taux de réduction bactérienne 2 h après lavage au savon synthétisé.**

Opérateur	Prélèvement	Taux de réduction bactérienne (TR)
N°1	D1 (2h)	93,47%
	G1 (2h)	85,14%
N°2	D2 (2h)	65,57%
	G2 (2h)	64,70%
N°3	D3 (2h)	98,57%
	G3 (2h)	78,86%

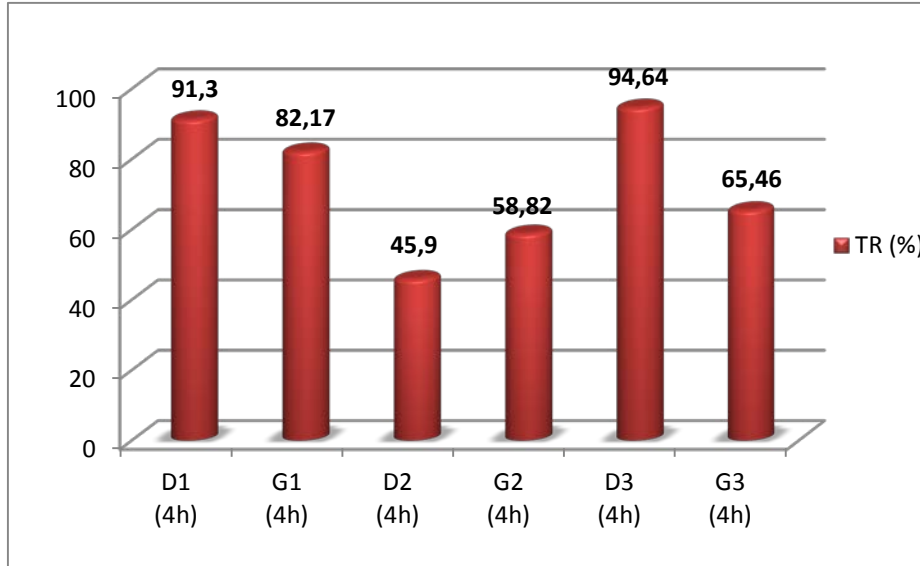


**Figure 30 : Taux de réduction bactérienne (TR) 2 h après lavage au savon.**

Les résultats des manipulations réalisées ont été très encourageants : après un lavage des mains au savon, le taux de réduction bactérienne sur la peau a été de 45,90 à 94,64%, et ce même 4 heures après le lavage des mains (Tableau 11 et Figure 31, ci-après).

**Tableau 11. Les taux de réduction bactérienne 4 h après lavage au savon synthétisé.**

Opérateur	Prélèvement	Taux de réduction bactérienne (TR)
N°1	D1 (4h)	91,30
	G1 (4h)	82,17
N°2	D2 (4h)	45,90
	G2 (4h)	58,82
N°3	D3 (4h)	94,64
	G3 (4h)	65,46



**Figure 31 : Taux de réduction bactérienne (TR) 4 h après lavage au savon.**

L'efficacité et la rémanence de ce savon paraissent être excellentes. Ces résultats permettent également de conclure que l'huile essentielle de citron présente dans le savon semble être efficace avec une activité antibactérienne remarquable.

Ces résultats étaient attendus et concordant avec les données bibliographiques concernant l'efficacité antibactériennes de l'HE de citron utilisée comme adjuvant dans notre savon amélioré.

Plusieurs études ont démontré que les huiles essentielles de *citrus limon* ont des propriétés antimicrobiennes contre les bactéries, les levures et les moisissures (FISHER et PULLIPS, 2008).

PIACENTINI (1949) était le premier qui montre que les essences d'agrumes en solution aqueuse ont des propriétés de désinfectants plus puissants que le phénol. SUBBA et al. (1967) ont signalé que les HE de *Citrus limon* inhibent le développement de spores des *bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* et *lactobacillus plantarum*.

L'étude de FICHER et PHILLIPS (2006) a montré que le linalol et le citral (composants des huiles essentielles de *citrus limon*) ont des propriétés antimicrobiennes sous forme de vapeur contre *campylobacterjejuni*, *E.coli O157*, *Lesteria monocytogenes*, *bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

Les résultats de cette étude sur le pouvoir désinfectant du savon sont très encourageants, mais celle-ci mériterait d'être améliorée et poursuivie. Il serait intéressant d'identifier les colonies dénombrées dans chaque boîte de gélose et pour chaque opérateur.

Dans une étude similaire (TANNEUR, 2006), Les mains de l'opérateur avant le lavage étaient contaminées par des bactéries du genre *Bacillus* (flore transitoire cutanée), *Pantoea* (entérobactéries) et par *Staphylococcus hominis* (flore résidente cutanée).

La flore cutanée est constituée d'une flore résidente (micro-organismes implantés de manière permanente sur la peau) et d'une flore transitoire, de contamination récente (ABBARA, 2004).

La flore résidente comprend des bactéries :

- aérobies : *Staphylococcus epidermidis*, Corynébactéries, Microcoques ;
- anaérobies : essentiellement *Propionibacterium acnes*.

La flore transitoire se compose essentiellement de :

- Entérobactéries ;
- *Pseudomonas spp* provenant de l'environnement ;
- Klebsielles ;

- Streptocoques du groupe A ;
- *Enterococcus spp* ;
- *Staphylococcus aureus* ;
- *Candida albicans* : chez les sujets immunodéprimés ou diabétiques ;
- Spores de *Bacillus spp* et *Clostridium spp*, provenant de l'environnement.

Cette flore est totalement éliminée par un lavage simple ou hygiénique des mains avec un savon antiseptique (ABBARA, 2004, GROSSET, 2004).

Le savon obtenu semble avoir une activité bactéricide prolongée dans le temps sur la peau : jusqu'à 4 heures après le lavage des mains, le taux de réduction bactérienne a atteint 94,64%. La peau ne s'est pas recontaminée, malgré que la chaleur et l'humidité des mains génèrent un milieu confiné très favorable au développement des bactéries. Le savon semble donc avoir une excellente rémanence.

La peau des mains semble protégée de la recontamination bactérienne par l'action rémanente du savon. Cependant, il est possible que des bactéries restent en phase de latence (capables de survivre mais pas de se multiplier).

## **Conclusion et perspectives.**

Le présent travail a pour objectif l'exploitation des huiles essentielles de *Citrus limon* et leur valorisation à travers leur activité antibactérienne dans la synthèse d'un savon.

Les caractéristique physicochimique du savon obtenu ; pH de 9.65 et l'alcali libre caustique de 0.28%, nous ont permis de classer le savon dans la 2<sup>ème</sup> gamme des savons de ménages.

Le savon obtenu semble avoir une activité bactéricide prolongée dans le temps sur la peau : jusqu'à 4 heures après le lavage des mains, le taux de réduction bactérienne a atteint 94,64%.

Le savon semble donc avoir une excellente rémanence.

En perspective, il est souhaitable :

- de déterminer le temps au bout duquel la rémanence du savon s'atténue;
- de réaliser d'autres études comprenant des protocoles de désinfection des mains, permettant par exemple de déterminer le temps de lavage minimum pour un effet optimum du savon;
- de réaliser des études comparatives de l'efficacité et la rémanence du savon obtenu avec d'autres savons, pouvant servir de témoins.

## Références

- ABBARA, A, 2004. Ecologie microbienne de la peau, la flore cutanée et ses caractéristiques [Enligne]. (Page consultée le 20/05/2014). Adresse URL : [http://www.alyabbara.com/livre gyn obs/termes/hygiene/flore transitoire résidente peu mains.html](http://www.alyabbara.com/livre_gyn_obs/termes/hygiene/flore_transitoire_residente_peu_mains.html).
- AFNOR NF ISO 855, 2004. *Huile essentielle de citron [Citrus limon (L.) Burm.f.]*;AFNOR, Paris.
- AFNOR, 1986. *Huiles essentielles. Recueil de normes françaises*. Edition Tec&Doc Lavoisier. 2<sup>e</sup> édition.
- AFNOR, 1984. *Association Française de Normalisation Recueil des normes françaises des corps gras, raines oléagineuses, produits dérivés*. 3<sup>ème</sup> édition.
- AFNOR, 2000. *Association Française de Normalisation. Normes françaises : huiles essentielles*. AFNOR, Paris.
- AFNOR, NF T.75-2002. *Association Française de Normalisation. Les huiles essentielles*. Paris, France.
- AFSSAPS, 2008:*Recommandations relatifs aux critères de qualité des huiles essentielles*.
- AHMAD, M. M., REHMAN, S. U., ANJUM, F. M., BAJWA, E. E., 2006. *Comparative physical examination of various citrus peel essential oils*. International Journal of Agriculture and Biology, 8, p. 186-190.
- BACHELOT, C., BLAISE, A., CORBEL, T. et LE GUERNIC, A., 2006. *Les huiles essentielles : extraction et comparaison*. U.C.O Bretagne, p. 1-18.
- BAE, J.M, Lee, E.J et GUYATT, G, 2009. *Citrus fruit intake and pancreatic cancer risk : a quantitative systematic review*. Pancreas; 38:168-74.
- BAKKALI, F., AVERBECK, S., AVERBECK, D., & IDAOMAR, M., 2008. *Biological effects of essential oils – A Review*. Food and Chemical Toxicology, 46(2), 446-475.
- BARANDA, L, GONZALEZ-AMARO, R, TORRES-ALVAREZ, B, ALVAREZ, C et RAMIREZ, V., 2002. *Correlation between P<sup>H</sup> and irritant effect of cleansers marketed for dry skin*. International Journal of Dermatology, 41, 494-499.
- BARDEAU F. (2009). *Les huiles essentielles: Découvrir les bienfaits et les vertus d'une médecine ancestrale*. Editions Lenore, 315.
- BARRY, N, 2001. *Art d'extraire les huiles essentielles : De parfum à faire soi même*. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 125-128.

- BATTINELLI, L et al., 2003. *Effect of limonin and nomilin on HIV-1 replication on infected human mononuclear cells*. *Planta Med.* 69:910-913.
- BELAICHE, P., 1979. *Traité de phytothérapie et l'aromatérapie*. Tome I: L'aromatogramme. Ed : maloine S.A., Paris, 204 p.
- BENAVENTE-GARCIA, O et CASTILLO, J, 2008. *Update on uses and properties of citrus flavonoids : new findings in anticancer, cardiovascular and antiinflammatory activity*.
- BENEDICTE, B., BACHES, M., 2011. *Livre des agrumes*. Ed : Eugen Ulmer, 08 rue Blanche, 75009, Paris, 440-01. Adresse URL : [www.editins-ulmer.fr](http://www.editins-ulmer.fr).
- BESSON, S., 2007. *Propriétés adhésives Entre deux bulles de savon*. Thèse de doctorat de l'université pierre et marie curie. Paris, France. p. 1-144.
- BLANCKE, R., 2001. *Guide des fruits et légumes tropicaux*. Ed : Eugen Ulmer, Paris. 288 p.
- BLANCO TIRADO, C., STASHENKO, E. E., COMBARIZA, M. Y., MARTINEZ, J. R. 1995. *Comparative study of Colombian citrus oils by high-resolution gaschromatography and gas chromatography-mass spectrometry*. *J. Chromatogr.A* 697, p. 513.
- BOULANGER, P, 1999. *Le Savon de Marseille*, Équinoxe-carrés de Provence, Barbentane.
- BOURGOU, S., RAHALI, F, Z., OURGHEMMI, I., SAIDANI TOUNSI, M., 2012. *Changes of Peel Essential Oil Composition of Four Tunisian Citrus during Fruit Maturation*. *The Scientific World Journal*, 10 p.
- BRUNETON J., 2005. *Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux*. Edition Tec&Doc Lavoisier. 3<sup>e</sup> Edition. Pp. 83-85.
- BRUNETON, J., 1987. *Mono et sesquiterpènes In elements de photochimie et de pharmacognosie*. Ed : Tec & Doc., Lavoisier, Paris, 223-234.
- BRUNETON, J., 1993. *Pharmacognosie et photochimie des plantes médicinales*. Lavoisier, Paris. Tec&Doc.
- BRUNETON, J., 1999. *Pharmacognosie- Phytochimie- Plantes médicinales*. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 1120 p.
- CARRELET, T et POSPISIL, F., 2001. *Objectif mains ; Guide technique pour l'hygiène et la protection des mains*. Publications C.CLIN SUD-Est, Tabloid Communication, Paris. p. 49-52.
- CARSON, C.F., RILLEY T. V et BOSQUE F., 2002. *Antimicrobial activity of the major components of essential oil of Malaleuca alternifolia*. *Journal of Applied Bacteriology*. 78, p: 264-269.

- CATALOGUES DES NORMES ALGERIENNES. 2008.
- CATIER O. et Roux D., 2007. Botanique, pharmacognosie, phytothérapie. 3eme édition. Cahiers du préparateur en pharmacie. Ed. ISBN. Wolters Kluwer. Pp. 77-79/81-82.
- CAUBERGS, L, 2006. *La fabrication du savon : Aspects techniques, économiques et sociaux*. Ed ATOL, Leuvenestraat 5/1, 3010 Leuven, Belgique.
- CHAINANI-Wu, 2002. *Diet and oral, pharyngeal, and esophageal cancer*. Nutr Cancer. 44:104-126.
- CHATHAPHON, S., CHATHACHUM, S et HONGPATTARAKERE, T, 2008.
- CLEMENT J.M. (1981). *Les agrumes*. Librairie Larousse, Paris, 3-37.
- CLOAREC, F, 2013. *L'Âme du savon d'Alep*, éd. Noir sur Blanc.
- COATS, A.J, 1998. *The potential role of soluble fibre in the treatment of hypercholestérolaemia*. Postgrad Med J. 74:391-394.
- COTTIN, R, 2002. *Citrus of the World. A Citrus Directory*. SRA INRA-CIRAD (éd), France.
- COUDERC, V.L., 2001. *Toxicité des huiles essentielles*. Thèse de grade Docteur Vétérinaire.
- COX, S.D et al.1991. *In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Malaleuca alternifolia essential oils*. Journal of Applied Microbiology. 88, p: 170-175.
- COX, S.D et al.2000. *The mode of antimicrobial action and chemical composition of the essential oils of Malaleuca alternifolia (tee tree oil)* . Journal of Applied Microbiology. 88, p: 170-175.
- DAVIDSON, P.M., 1997. *Methods for testing the efficacy of food antimicrobial*. Food Technology. 43, p: 148-155.
- DE LAULANIE, C. CREPY, M.N CHOUDAT, D. *Attention au savon d'atelier*. Archives des maladies professionnelles et de l'environnement, vol. 68, no 3, juillet 2007, p. 253-257.
- DONNEZ, M, 1993. *La production du savon*. Centre du développement industriel, Bruxelles, Belgique. p. 1-50.
- EL KALAMOUNI, C., 2010. *Caractérisation chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées*. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse.
- EL ABED D. et KAMBOUCHE N., 2003. *Les huiles essentielles*. Edition Dar el Gharb.
- EL HAIB Abderrahim, 2011 Thèse du DOCTORAT, Université de Toulouse

- FOSCHI, R et al., 2010. *Citrus fruits and cancer risk in a network of case-control studies.*
- GARNERO J., 1991. *Les huiles essentielles, leur obtention, leur composition, leur analyse et leur normalisation.* Ed : Techniques-Encyclopédie des médecines naturelles, Paris p. 2-20.
- GAUTIER, C et al., 2013. *Le bon usage des antiseptiques pour la prévention du risque infectieux chez l'adulte.* CCLIN Sud-ouest. France.
- GHARAGOZLOO, M et DROUDCHI, M et GHADERI, A, 2002. *Effects of Citrus aurantifolia concentrated extract on the spontaneous proliferation of MDA-MB-453 and RPMI-8866 tumor cell lines.* Phytomedicine. 9:475-477.
- GHARAGOZLOO, M et GHADERI A, 2001. *Immunomodulatory effect of concentrated lime juice extract on activated human mononuclear cells.* J Ethnopharmacol. 77:85-90.
- GIROU E., LOYEAU S., 2002. *Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomized clinical trial.* British Medical Journal. 325-362.
- GORIS, A. 1967. *Manuel de botanique.* Ed. Clin. pp. 265-268.
- GOVINDACHARI, T.R et al., 2000. *Antifungal activity of some tetranortriterpenoids.* Fitoterapia. 71:317-320.
- GROSSET, J., 2004. *Hygiène hospitalière [en ligne].* Tours, France. Faculté de médecine de Tours. (page consultée le 20/05/2014). Adresse URL : <http://www.med.univ-tours.fr:enseign/santepub/doc-ped/prevention/prevention-IN/lavage-mains.htm>.
- GUIGNARD J.L. (2001). *Botanique, Systématique moléculaire.* Ed. Masson, 290.
- HELLAL, Z, 2001. *Contribution à l'étude des propriétés antibactériennes et antioxydantes de certaines huiles essentielles extraites des Citrus. : Application sur la sardine (Sardina pilchardus).* Mémoire de magistère, Faculté des sciences biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.
- HERRUZO-CABRERA R., VIZCAINO-ALCAIDE M-J., FDEZ-ACINORO M-J., 2000. *Usefulness of an alcohol solution of N-Duopropenide for the surgical antiseptics of hands compared with handwashing with iodine-povidone and chlorhexidine : clinical essay.* Journal of Surgery Research. 94: 6-12.
- HIMED, L., 2011. *Evaluation de l'activité antioxydante des huiles essentielles de Citrus limon : application à la margarine.* Mémoire de magistère, institut de la nutrition, de l'alimentation et des Technologies Agro-Alimentaire I.N.A.T.A.A. Université Mentouri – Constantine.

- HOTANTAI, L., 1999. *Détergents et produits de soins corporels*, Paris, Dunod, 479 p.
- ISERIN, P., MASSON, M., RESTELLINI, J.P., YBERT, E. et MOULARD, F., 1996. *Encyclopédie des plantes médicinales ; Identifications, Préparations, Soins*. Ed : Larousse-Bordas pour l'édition originale en langue française, France. 335 p.
- JOHO, P., 2007. *Les graisses*. Ed : Paul Emile Victor : maintenance et environnement.
- KAWAGUCHI, K et al., 1997. *Hesperidin as an inhibitor of lipases from porcine pancreas and Pseudomonas*. *BiosciBiotechnolBiochem*; 61:102-104.
- KAWAII, S et al., 1999. *Antiproliferative activity of flavonoids on several cancer cell lines*. *BiosciBiotechnolBiochem*; 63:896-899.
- KIM, H.J et al., 2002. *Dietary factors and gastric cancer in Korea: a case-control study*. *Int J Cancer*. 97:531-535.
- KÖHLER, F.E, 1897. *Köhler's medizinal pflanzen*. Atlas zur pharmacopoea germanica, Germany.
- KONE, S, 2000. *Fabrication de savons améliorés. Technical Information, Eschborn, Allemand. P. 1-14*.
- KUNIMASA, K et al., 2010. *Nobiletin, a citrus polymethoxyflavonoid, suppresses multiple angiogenesis-related endothelial cell functions and angiogenesis in vivo*. *Cancer Sci*. 101:2462-9.
- KUROWSKA, E.M et al., 2000. *Régulation of apo B production in HepG2 cells by citrus limonoids*. In: Berhow MA, Hasegawa S, Manners GD, editors. *Citrus Limonoids Functional Chemicals*. Agriculture and Foods. Washington, 175-184.
- LARSON, E.L, MORTON, H.E., 199. *Alcohols*. Lea and Febiger ed. Philadelphia. P.
- LEBLANC, R, 2001. *Le savon : de la préhistoire au XXIe siècle*, Éd. Pierann, Montreuil-l'Argille, 2001, 396 p.
- LECLERC, H, 1984. *Le citron : Les fruits de France*. 9ème Ed. Masson. France. 274 p.
- LIS-BALCHIN, M, 2002. *Lavender : the genus Lavandula*. Taylor and Francis, London.p : 37, 40, 50, 155-200.
- LIU, Y et al., 2001. *Citrus pectin: characterization and inhibitory effect on fibroblast growth factor-receptor interaction*. *J Agric Food Chem*. 49:3051-3057.
- MADHAVI, D.L., DESHPANDE, S.S et SALUNKHE, D.K., 1996. *Food Antioxydants. Technological, Toxicological, and Health Perspectives*. Marcel Dekkar, Inc. New York. P: 65.

- MARCHETTI, M.G., KAMPF G., FINZI G., SALVATORELLI G., 2003. *Evaluation of the bactericidal effect of five products for surgical hand disinfection according to prEN 12054 and prEN 1279*. Journal of Hospital Infection. 55(33):238.
- MARCUSSON, J., 1929. *Manuel de Laboratoire pour l'industrie des Huiles et Graisses*. Librairie Polytechnique CH. BERANGER.Paris.
- MASLO, C., 2002. *La désinfection des mains par friction hydro-alcoolique*. Campagne.
- MEDINA, E., DE CASTRO, A., ROMERO, C., and BRENES, M. 2006. *Comparison of the concentration of phenolic compounds in olive oils and other plant: correlation with antimicrobial activity*. J.Agric. Food Chem. 54, 4954-4961.
- MEDJEDOUB, F, 1996. *Biologie de l'aleurode floconneux, (Homoptera, Aleurodidae) dans un verger d'agrumes de la région de Draâ Ben Khedda (Tizi-Ouzou)*. Magistère en Biologie & Ecologie des Populations. Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou.
- MINATO, K et al., 2003. *Lemon flavonoids, eriocitrin, suppresses exercise-induced oxidative damage in rat liver*. Life Sci. 72 :1609-1616.
- MIYAKE, Y et al., 1998. *Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats*. Lipids. 33:689-695.
- MONNATE., 2014. *Les huiles essentielles* Livre (voir).
- MOOR, C et SNAUWAERT, P., 2011.
- MOYEN, M et VAN PUYVELDE, L. 2009. *Le savon*. Elocution. p. 1-8.
- NICOLAS, H., DANINA, L., OMAR, E., 2011. *Service de chimie et physicochimie organiques*. "Printemps des Sciences", Bruxelles.
- ODEN BELLA, M.G, 2014. *Techniques améliorées de fabrication artisanale de savons et de détergents*, collection PRO-AGRO, ISF-Cameroun et CTA, Wageningen, Pays-Bas, 44 p.
- OGATA, S et al., 2000. *Apoptosis induced by the flavonoide from lemon fruit (Citrus limon BURM.f.) and its metabolites in HL-60 cells*. BiosciBiotechnolBiochem. 64:1075-1078.
- PADRINI, P et LUCHERONI, M.T., 1996. *Le grand livre des huiles essentielles- guide pratique pour retrouver vitalité, bien-être et beauté avec les essences*. Ed : De Vecchi, Paris.
- PERRY, N.B., ANDERSON, R.E. et BRENNAN, N., 1999. *Essential oils from Dalmatian sage (Salvia officinalis): variation among individuals, plant parts, seasons and sites*. J. Agric. Chem. 47(5): 48-54.

- PINGOT, A., 1998. *Les huiles essentielles*. Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris, 230- 236.
- PIOCHON M., 2008. *Etude des huiles essentielles d'espèces végétales de la flore Laurentienne: composition chimique, activités pharmacologiques et hémi-synthèse*. Université de Québec.
- PORE, J, 1992, *Émulsions, microémulsions, émulsions multiples*, Éditions techniques des industries des corps gras, Neuilly, 270 p.
- POULOUSE, S.M, HARRIS, E.D et PATIL, B.S, 2005. *Citrus limonoids induce apoptosis in human neuroblastoma cells and have radical scavenging activity*. J Nutr. 135:870-877.
- RAHILI, G., 2002. *Les huiles essentielles et leurs intérêts*. La forêt algérienne n°4. Institut national de la recherche forestière. Bainem, Alger.
- RAPHAEL, T.J et KUTTAN, G, 2003. *Effect of naturally occurring triterpenoidsglycyrrhizic acid, ursolic acid, oleanolic acid and nomilin on the immune system*. Phytomedecine. 10:483-489.
- **Référence :**
- RICHARD F., 1992. *Manuel des corps gras*. Paris, Ed : Lavoisier, Tec.&Doc., p :1228-1241.
- ROBERT, A. et LOBSTEIN, A., 2005. *Plantes aromatiques : épices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Ed : Tec & Doc, Lavoisier, Paris, 522 p.
- SALAGER, J.L, 2002. *surf actifs : types et usages*. Module d'enseignement en phénomènes interracial. Cahier FIRP N° 300.
- SMALLFIELD, B., 2001. *Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes*. Crop & Food Research. Number 45, 4p.
- SPITZ, L, 2009. *Soap manufacturing technology*, AOCS Press, Urbana (Ill.), , 474 p.
- SPITZ, L., 2000. *Soaps and Detergents*. AOCS Press, San Diego.
- TANAKA, T et al., 2000. *Citrus limonoidsobacunone and limonin inhibit azoxymethane-induced coloncarcinogenesis in rats*. Biofactors. 13:213-218.
- TANNEUR, M.M.J., 2006. *Etude de l'efficacité in vivo d'un savon chirurgical à base de chlorhexidine*. Thèse de Doctorat. Université de Paule-Sabatier de Toulouse. P. 1-53.
- TENSCHER, E., ANTON, R et LOBSTEIN, A., 2005. *Plantes aromatiques. Epices, aromates, condiments et huiles essentielles*. Edition Tec&doc. Pp3-50/121-124.
- TERPSTRA, A.H et al., 2002. *The hypocholesterolemic effect of lemon peels, lemon pectin, and the waste stream material of lemon peels in hybrid F1B hamsters*. Eur.J.Nutr. 41:19-26.

- TOGBE, F., Alexis, C., YETE, P., AZANDEGBE ENI, C., WOTTO, D-V, 2014. *Évaluation du comportement de quelques savons traditionnels en solution aqueuse : Détermination de la concentration micellaire critique et de la température de Krafft*. J. Appl. Biosci. p. 7493-7498.
- TRAORE O et al., 2004. *Comparaison de l'efficacité bactéricide in vivo de la polyvidone iodée alcoolique versus la chlorhexidine alcoolique pour la préparation du champ opératoire*. Hygiènes. 12: p 431-6
- VALNET, J. 2001. *La santé par les fruits, légumes et les céréales*. Ed Vigot. France, 411 p.
- VALNET, M., 2005. *Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereus in tyndallized carrot broth International*. Journal of Food Microbiology. 85, p:73-81.
- VIRBEL-ALONSO, C, 2013. *Savon de Marseille et autres savons naturels : Un concentré de bienfaits pour votre maison et votre bien-être*. France, Eyrolles, ISBN : 978-2-212-55510-3.
- VOKOU, D., KOKKINI, S. et BRESSIERS, J.M., 1998. *Origanum onites (Lamiaceae) in Greece Distribution, volatile oil yield, and composition*. Economy botanic. 42, p:407-412.
- WATERVAL, G, 2011. *Savon Artisanal*. GNU Free Documentation. p. 1-20.
- WENDAKOON, K. et SAGUCHI, N.A., 1995. *Methods of asses quality and stability of oils and fatcontaining foods*. AOCS. Press, champaign.
- WERNER, M., 2002. *Les huiles essentielles : réveil du corps et de l'esprit*. Éditions Vigot, collection Santé Bien-être, 95 p.
- ZAHALKA J.P., 2010. *Les huiles essentielles (230 huiles essentielles, 170 maux traités*. Edition Dauphin. Pp. 12-39.
- ZAMPA, A., SILVI, S., SERVILI, M., MONTEDORO, G., ORPIANESI, C., and CRECI, A. 2006. *In vitro modulatory of colonic microflora by olive iridoids*. Microb. Ecol. Health Dis. 18, 147-153.

## Annexes

## Annexe N° 1. La composition de la Gélose Nutritive

- Extrait de viande 1,0g
- Extrait de levure 2,5g
- Peptone 5,0g
- Chlorure de sodium 5,0g
- Agar 16,5g
- pH = 7,0

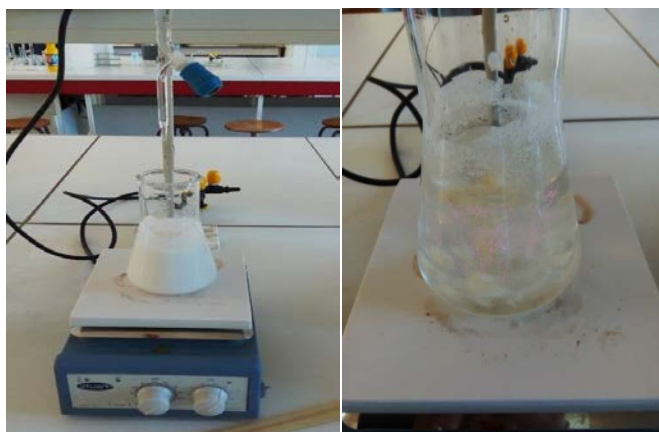
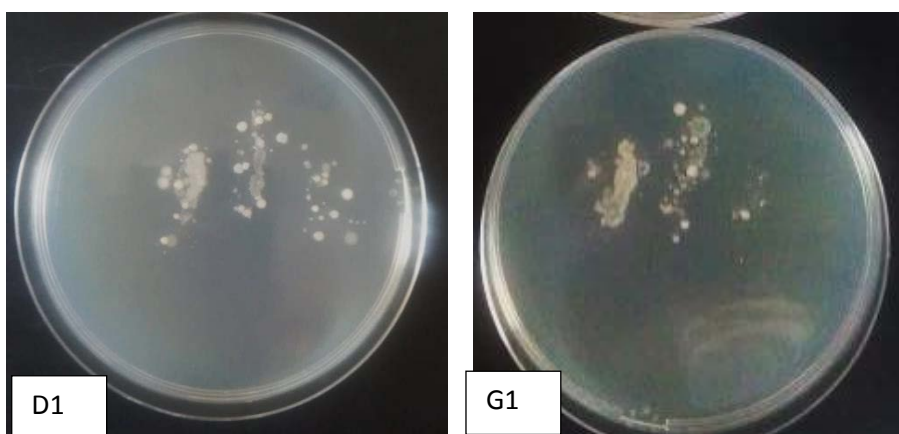
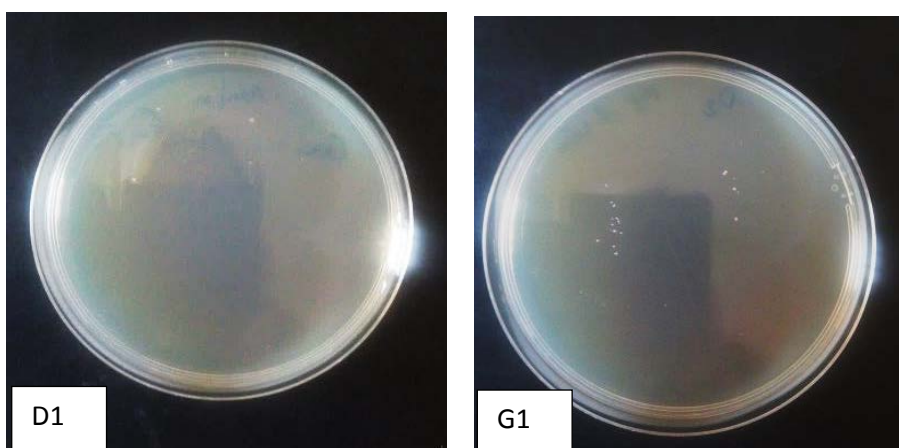
## Annexe N°2. Les normes adoptées pour classer les savons et détergents (ISO 684-1974).

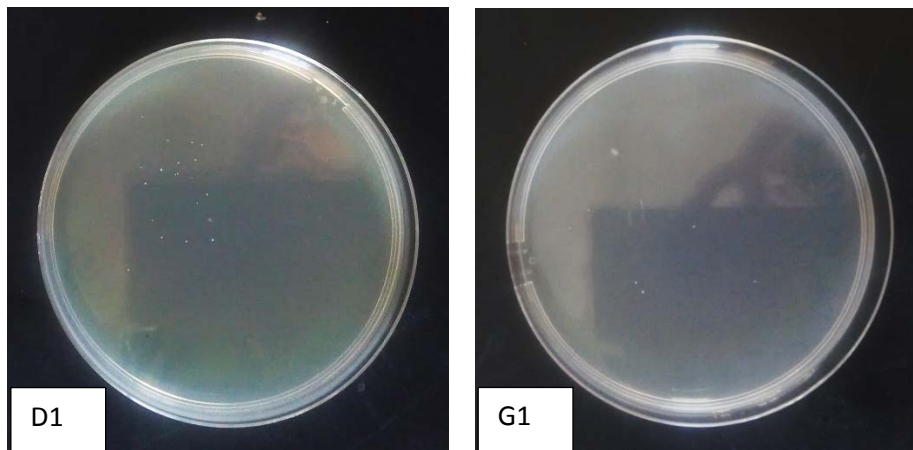
Type de produits	Savon de ménage			Savon de toilette		Pate de savon
	Parfumé 1ère Gamme	2ème	3ème	1ère	2ème	
Matériels grasses animales ou végétales (min)	62	58	60	78	70	18
Alcali libre (max)	0.08	0.3	0.3	0.002	0.02	0.02
Humidité (max)	28	30	28	14	20	55

## Annexes N°3. Relargage du savon

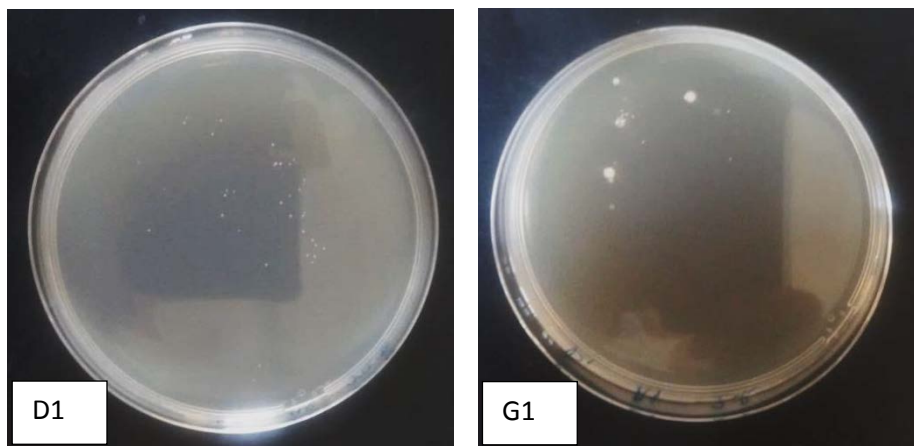


Photo 16. L'étape du relargage du savon.

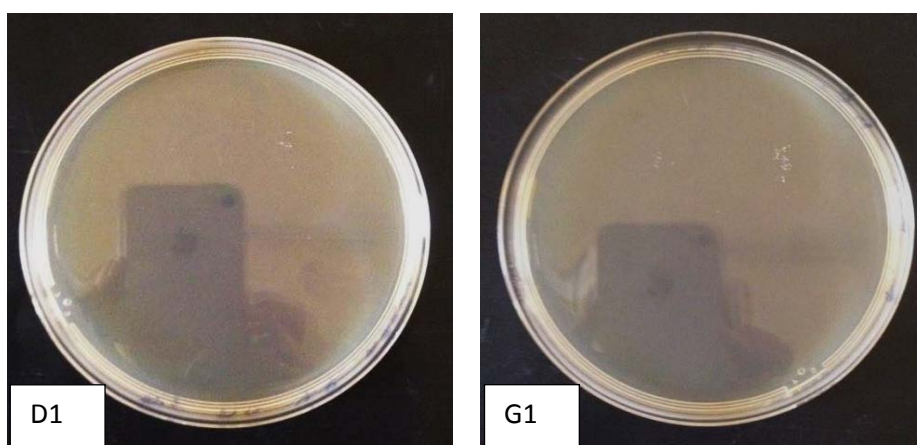
**Annexe N°4. Détermination des alcali libre caustique du savon****Photo 17. Détermination des alcali libre caustique du savon.****Annexe N°5. Les prélèvements microbiologiques des mains de l'opérateur 1 avant et après lavage au savon.****Photo 18. Prélèvements microbiologiques des mains avant lavage au savon.****Photo 19. Prélèvements microbiologique des mains 1min après lavage au savon.**



**Photo 19. Prélèvements microbiologique des mains une 1/2h après lavage au savon.**

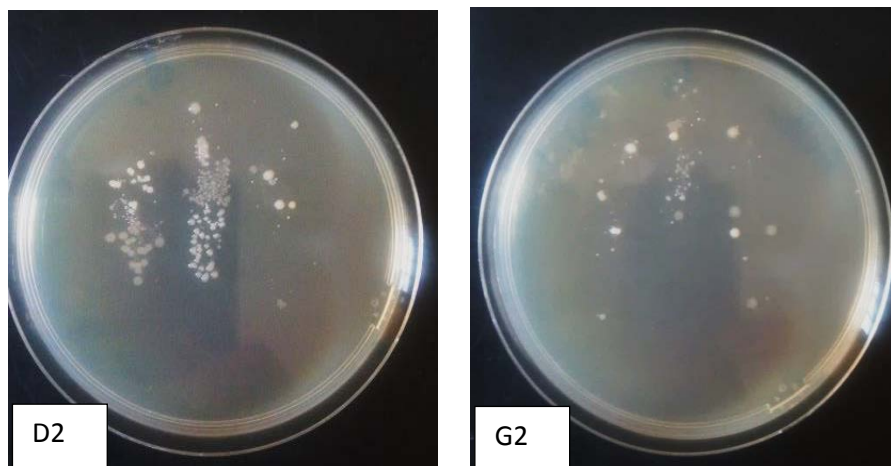


**Photo 20. Prélèvements microbiologique des mains 2 h après lavage au savon.**

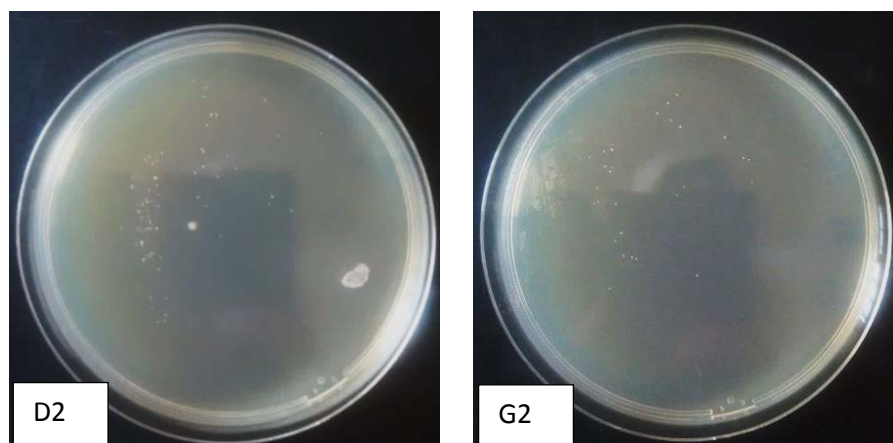


**Photo 21. Prélèvements microbiologique des mains 4 h après lavage au savon.**

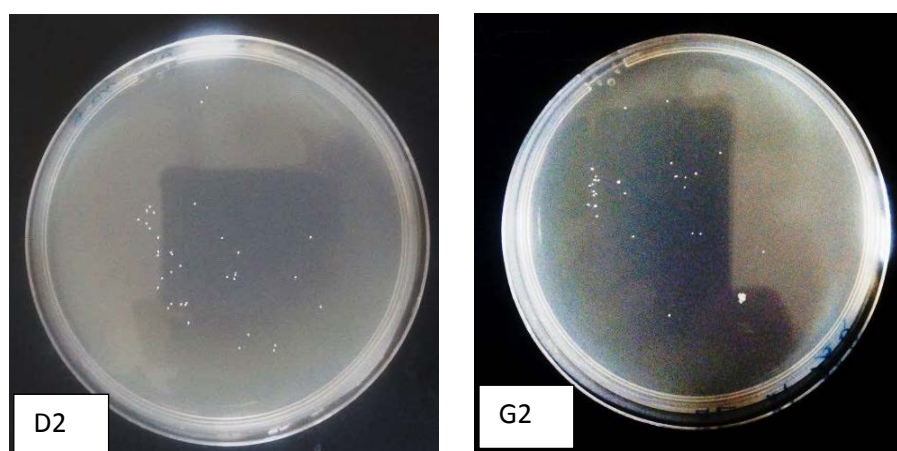
**Annexe N° 6. Les prélèvements microbiologiques des mains de l'opérateur 2 avant et après lavage au savon.**



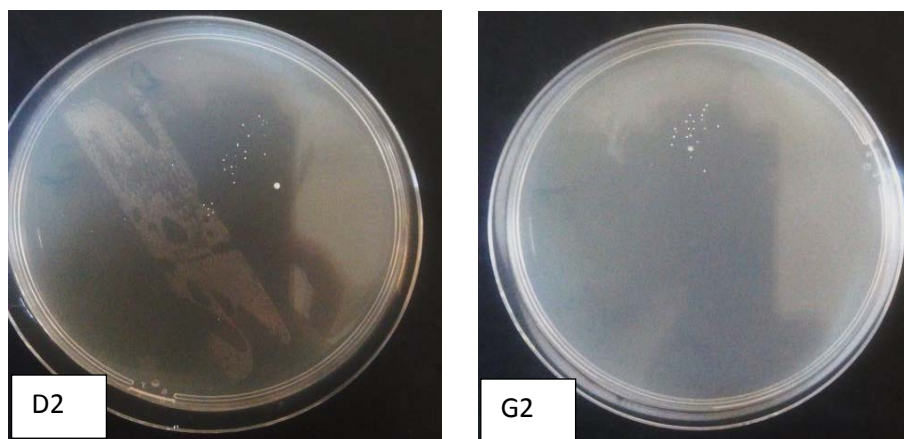
**Photo 22. Prélèvements microbiologique des mains avant lavage au savon.**



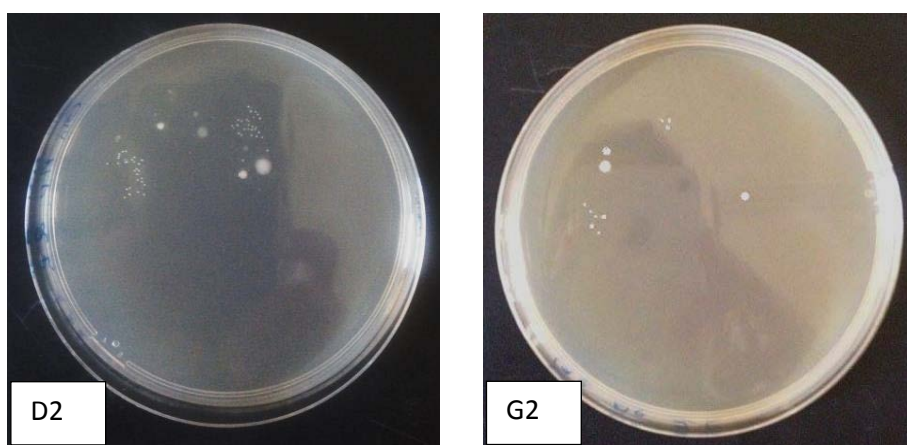
**Photo 23. Prélèvements microbiologique des mains 1min après lavage au savon.**



**Photo 24. Prélèvements microbiologique des mains une 1/2h après de lavage au savon.**

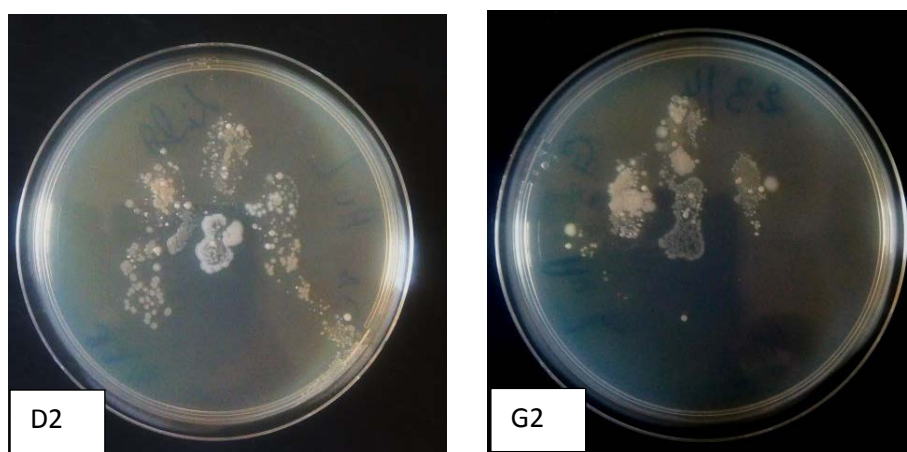


**Photo 25. Prélèvements microbiologique des mains 2h après lavage au savon.**

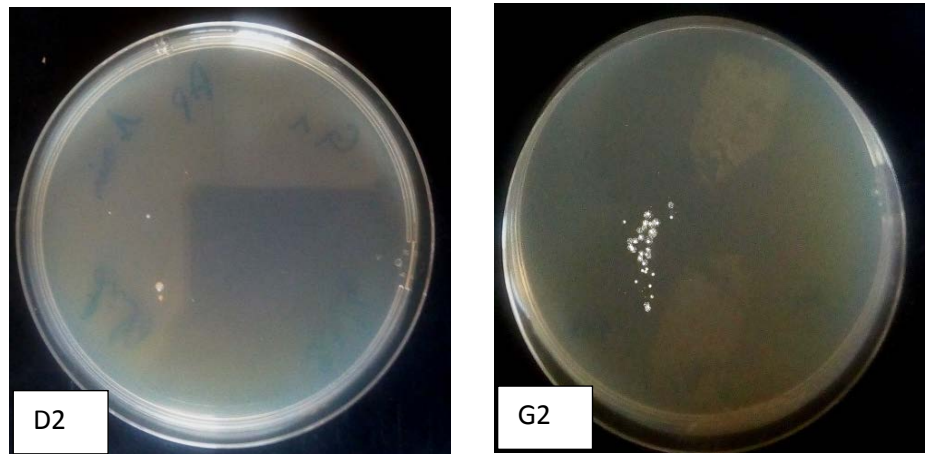


**Photo 26. Prélèvements microbiologique des mains 4 h après lavage au savon.**

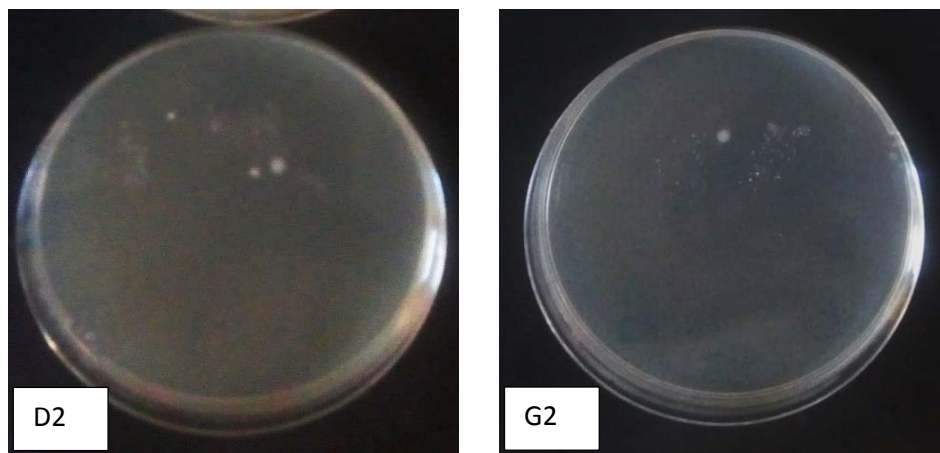
**Annexe N° 7. Les prélèvements microbiologiques des mains de l'opérateur 3 avant et après lavage au savon.**



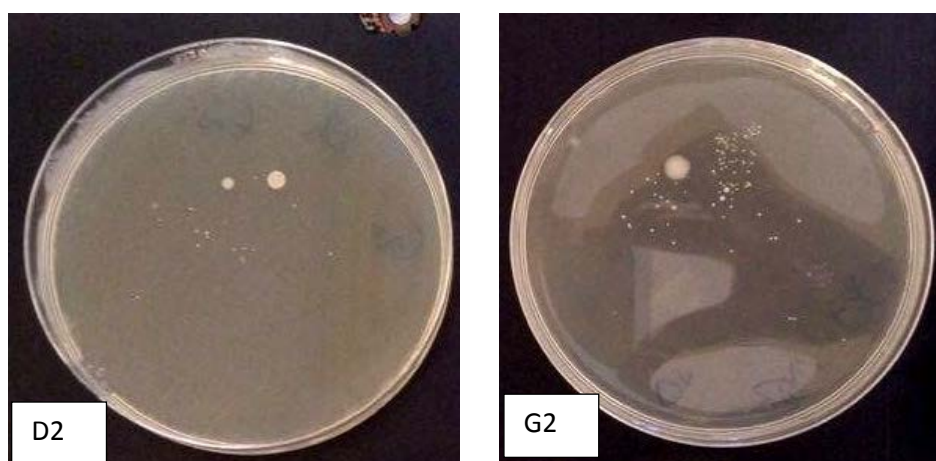
**Photo 27. Prélèvements microbiologique des mains avant lavage au savon.**



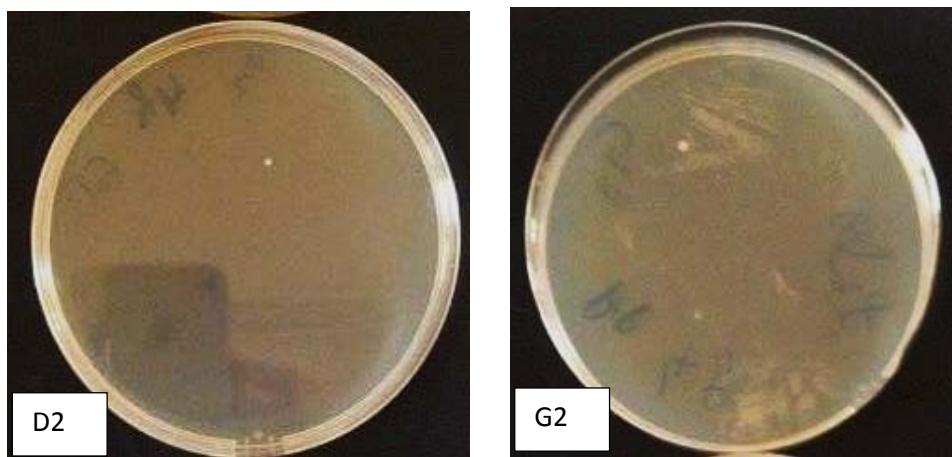
**Photo 28. Prélèvements microbiologique des mains 1min après lavage au savon.**



**Photo 29. Prélèvements microbiologique des mains une 1/2h après lavage au savon.**



**Photo 30. Prélèvements microbiologique des mains 2h après de lavage au savon.**



**Photo 31. Prélèvements microbiologique des mains 4 h après de lavage au savon.**