

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Dr. Moulay Tahar de Saida
Faculté des Sciences
Département De Biologie



Laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation
biologique des Plantes

**MEMOIRE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME
DE MASTER EN BIOLOGIE**

Option : **Microbiologie appliquée**

Présenté par :
M^{elle}. MAKHLOUF Chaimaa
Mme. CHERIFI Rekia

Sur le thème intitulé :

**Contribution à l'étude des propriétés
conservatrices des extraits de *Ziziphus
lotus* et *Juniperus oxycedrus* dans les
produits cosmétiques**

Présenté Devant le jury :

M. SI TAYEB Tayeb	Professeur	U T. M. de Saïda	Président
M. BENREGUIEG Mokhtar	Maître de conférences -A-	U T. M. de Saïda	Examineur
M. HALLA Noureddine	Maître de conférences -B-	U T. M. de Saïda	Encadreur

Année universitaire : 2020/2021



REMERCIEMENTS



En premier lieu et avant tout je tiens à remercier DIEU le tout puissant qui nous a donné le courage, la patience et la force de terminer ce travail.

Le travail a été réalisé sous la direction de **Mr. HALLA Noureddine** Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude pour nous avoir encadré pendant la durée de ce travail, pour sa confiance, sa gentillesse, son encouragement, son soutien qu'il nous a accordé, pour ses remarques pertinentes et son optimisme. Nous sommes reconnaissantes pour le temps qu'elle nous a consacré et toutes les opportunités qu'elle nous a offertes au cours de ce travail.

Nous remercions également les membres du jury, **Mr. SI TAYEB Tayeb** et **Mr. BENREGUIEG Mokhtar** d'avoir consacré leur temps à la lecture de ce manuscrit, et d'accepter de juger et d'évaluer ce travail Enfin nous tenons à exprimer mes profonds remerciements à tous ceux qui nous en soutenu de près ou de loin pour la réalisation de ce travail.

Je dédie ce travail

À mes très chers parents, sans eux je n'aurai pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études.

À ma chère grande mère

À mes frères et sœurs, Rania, Fatima, Hiba, Abdelkader et Marwan.

À ma tante, Amina

À mes meilleures amies : Aicha, Siham,

À mon binôme

À tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment, je dédie ce modeste travail.

Chaimaa

Je dédie ce travail

À mes très chers parents, sans eux je n'aurai pu être ce que je suis, en reconnaissance de leurs efforts, leurs amours et leurs encouragements durant toutes mes études.

À mon Cher Mari

À mes frères et sœurs

À mes meilleures amies

À mon binôme

À tous ceux que j'aime, à tous ceux qui m'aiment, je dédie ce modeste travail.

Rekia

Résumé :

L'industrie cosmétique est un secteur dynamique porté par le marketing et l'innovation pour proposer des produits toujours plus novateurs, performants et ciblés.

Les études scientifiques et enquêtes d'associations de consommateurs remettant en cause l'innocuité de certains composants. Les conservateurs synthétiques tels que les parabènes, le triclosan ou encore le phénoxyéthanol, utilisés pour leur efficacité et leur faible coût, font partie des ingrédients cosmétiques pointés du doigt. Cela pose une véritable problématique aux fabricants de produits cosmétiques, qui se voient obligés d'adapter leurs formulations pour proposer des alternatives considérées comme sûres aux consommateurs.

L'objectif principale de ce travail est d'étudier les propriétés conservatrice (antimicrobienne et antioxydant) de deux espèces *Ziziphus lotus* et *Juniperus oxycedrus*, et présenter l'idée d'utiliser leurs extraits comme conservateurs naturel dans les produits cosmétiques.

Mots clés : Cosmétique, Conservation, *Ziziphus lotus*, *Juniperus oxycedrus*

Abstract :

The cosmetics industry is a dynamic sector driven by marketing and innovation to offer ever more innovative , efficient and targated products.

Scientific studies and surveys of consumer associations questioning the harmlessness of certain components. Synthetic preservation such as parabens, triclosan or even phenoxyethanol, used for their efficiency and low cost, are among the cosmetic ingrediients pointed out. This poses a real problem for manufactures of cosmetic products, who are forced to adapt their formulations to offer altarnatives considered safe to consumers.

The main objective of this work is to study the preservative properties (antimicrobial and antioxidant) of two species (*zizyphus lotus*) and (*Juniperus oxycedrus*), and to presnt the idea of using their extracts as naturel preservatives in cosmetic products.

Keywords : Cosmetic, Preservation, *Zizyphus lotus*, *Juniperus oxycedrus*

ملخص:

صناعة مستحضرات التجميل هي قطاع ديناميكي مدفوع بالتسويق و الابتكار لتقديم منتجات أكثر ابتكارا و كفاءة واستهدافا.

الدراسات و المسحات العلمية للجمعيات الاستهلاكية شككت في ضرر بعض المكونات المستخدمة في صناعة مستحضرات التجميل 'المواد الحافظة الاصطناعية مثل البارابين التريكلوسان أو حتى الفينوكسي ايثانول' المستخدمة لكفاءتها و تكلفتها المنخفضة 'من بين المكونات المشار إليها . يشكل هذا مشكلة حقيقية لمصنعي مستحضرات التجميل 'الذين يضطرون إلى تكييف تركيباتهم لتقديم بدائل تعتبر آمنة للمستهلكين.

الهدف الرئيسي من هذا العمل هو دراسة الخصائص الحافظة (المضادة للمكروبات و مضادة للأكسدة) للنوعين النباتيين (السدرة) و(العرعار) 'وتقديم فكرة استخدام مستخلصاتهما كمواد حافظة طبيعية.

الكلمات المفتاحية: مواد التجميل، الحافظات، نبات السدر، نبات العرعار.

Liste des abréviations

CSP : code de la santé publique

CMC : concentration micellaire critique

HLB: Hydrophilic Lipophilic Balance

BHT: butylhydroxytolène

BHA: butylhydroxyanisole

PAO : période après ouverture

DLU : date limite d'utilisation

INCI : International Nomenclature of Cosmétique Ingrédients

FDA: Food and Drug Administration

MIT : La méthylisothiazolinone

CSSC : Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs

CMR : Cancérogène, Mutagène, Reprotoxique

ROS : ReactiveOxygenSpecies

RNS : ReactiveNitrogenSpecies,

BHT : Butyl hydroxytoluène

BHA : Butylhydroxyanisole

TBHQ : Tert-Butylhydroquinone

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique

CMI: concentration minimale inhibitrice

EDA: effect-directedanalysis

HPTLC: High-performance thin-layer chromatography

TEAC: Trolox equivalent antioxidant capacity

FRAP: the ferric reducing ability of plasma

CSP : code de la santé publique

CMC : concentration micellaire critique

HLB : pour Hydrophilic / Lipophilic Balance, ou balance hydrophile / lipophile

BHT : butylhydroxytolène

BHA : butylhydroxyanisole

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique (tetrasodium EDTA, disodium EDTA)

INCI : International Nomenclature of Cosmétique Ingrédients

PAO: période après ouverture

DLU: la date limite d'utilisation

REACH: is a European Regulation and is an acronym for the Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals

Sommaire

Remerciement	I
Dédicace.....	II
Résumé.....	III
Abstract.....	IV
ملخص.....	V
Liste des abréviations.....	VI
Sommaire.....	VII
Liste des tableaux.....	IX
Liste des figures	X
Introduction.....	01
Chapitre I : Généralités sur les produits cosmétiques.....	03
1. Définition et Etymologie du mot cosmétique.....	04
2. Composition d'un produit cosmétique.....	04
2.1. Les ingrédients de la phase aqueuse.....	06
2.2. Les ingrédients de la phase grasse.....	07
2.3. Les silicones	11
2.4. Les actifs.....	12
2.5. Les tensioactifs.....	12
2.6. Les conservateurs.....	15
2.7. Les antioxydants.....	15
2.8. Les agents chélatants.....	16
2.9. Les filtres ultraviolets (UV)	17
2.10. Les matières colorantes et les opacifiants.....	17
3. La réglementation des produits cosmétiques.....	18
Chapitre II : Conservation des produits cosmétiques.....	21
1. Introduction et définition	22
2. Contamination microbienne des produits cosmétiques	22
2.1. Conservateurs antimicrobiens	24
2.2. Rôle et mode d'action des conservateurs antimicrobiens	24
2.3. Les conservateurs autorisés	25
3. L'oxydation en cosmétique : introduction et définitions	27
3.1. Rôle, mode d'action et exemples d'antioxydants.....	29
3.2. Les controverses liées aux antioxydants de synthèse	31
4. Les alternatives naturelles aux conservateurs synthétiques	31
4.1. Les huiles essentielles	32
4.2. Les extraits naturels obtenus à l'aide de solvants	32
4.3. Les huiles végétales	33
4.4. Intérêt des alternatives issues du monde végétal	33
5. Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de produits naturels et de la conservation des produits cosmétiques	36
5.1. Évaluation de l'activité antimicrobienne	36
5.2. Évaluation de l'activité antioxydante de produits naturels	38
5.3. Évaluation de l'efficacité d'un système de conservation cosmétique	38
Chapitre III : Plantes potentiellement utilisées comme conservateur	40
I. Généralités sur la plante étudiée : <i>Ziziphus lotus</i> L.	42
I.1. Historique et origine.....	42
I.2. Description botanique.....	42
I.3. Caractéristiques.....	42

I.4. Classification.....	43
I.5. Répartition géographique.....	43
I.6. Compositions biochimiques.....	44
I.7. Activités biologiques et thérapeutiques.....	47
II. <i>Juniperus oxycedrus</i> L.	50
II.1. Présentation de <i>Juniperus oxycedrus</i> L.	50
II.2. Description botanique.....	50
II.3. Classification botanique de <i>Juniperus oxycedrus</i>	53
II.4. Composition chimique de <i>Juniperus oxycedrus</i>	54
II.5. Activités biologiques de la plante.....	54
II.6. Propriétés thérapeutiques.....	55
II.7. Utilisations de l'huile de cade.....	56
Conclusion.....	59
Références bibliographiques.....	61

Liste des tableaux

Tableau I: Tableau des propriétés des tensioactifs en fonction de leur HLB...	14
Tableau II: Exemples de ressources naturelles aux propriétés antimicrobiennes et antioxydants HE : huile essentielle ; E : extrait ; HV : huile végétale.....	35
Tableau III: Teneur de la pulpe du jujubier frais en métabolites primaires.....	45
Tableau IV Composition biochimique de différents organes végétaux du <i>Z. lotus</i> ...	46

Liste des figures

Figure 1 : Molécule d'alcool benzylique.....	06
Figure 2 : Molécule de sorbitol ((2R, 3R, 4R, 5S)-Hexan-1, 2, 3, 4, 5,6-hexol) [polyol]	06
Figure 3 : Molécule de squalane (2,6, 10, 15, 19,23-Hexamethyltetracosane).....	07
Figure 4 : Molécule d'alcool stéarique (1-Octadecanol).....	08
Figure 5 : Molécule d'octyldodecanol (2-Octyl-1-dodecanol).....	08
Figure 6 : Molécule d'acide palmitique (1-hexadecanoic acid).....	09
Figure 7 : Molécule d'acide oléique ((9Z)-9-Octadecenoic acid).....	09
Figure 8 : Schéma d'une molécule de triglycéride, où R1, R2 et R3 sont des chaînes carbonées d'acides gras.....	10
Figure 9 : Molécule de palmitate de stéaryle (Octadecyl palmitate).....	10
Figure 10 : Molécule de phosphatidylinositol ((2R)-3-[(Hydroxy {(2R, 3R, 5S, 6R)-2, 3, 4, 5,6-Pentahydroxycyclohexyl} oxy} phosphoryle) oxy]-1,2-propanediyl diformate).....	11
Figure 11 : Schéma d'une molécule tensioactive.....	13
Figure 12 : Molécule de tetrasodium EDTA (Tetrasodium 2,2',2'',2'''-(1,2ethanediyldinitrilo) (Tetraacetate).....	17
Figure 13 : Principaux micro-organismes responsables de la contamination des produits cosmétiques.....	23
Figure 14 : Le mécanisme général de l'oxydation Exemple de la peroxydation lipidique (L• : radical lipidique).....	28
Figure 15 : Mécanisme d'action d'un antioxydant primaire.....	30
Figure 16 : Schéma d'un test d'activité antimicrobienne par diffusion en puits. Exemple de 3 échantillons à activité nulle (A), modérée (B) ou forte (C).....	37
Figure 17 : Plante de zizyphus lotus.....	44
Figure 18 : Fleur de <i>Zizyphus lotus</i> L.	44
Figure 19 : Fruits de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	44
Figure 20 : Epine de <i>Zizyphus lotus</i> L.....	44
Figure 21 : A, Rameau avec fleurs ; B, Ramule fructifère; C, Microsporophylle ; D,Feuilles, faceinférieure; E, Coupe de la feuille.....	52
Figure 22 : Morphologie de <i>Juniperus oxycedrus</i> L.....	71

Introduction

Depuis l'Antiquité, l'être humain utilise des produits cosmétiques. Loin de l'image frivole et superficielle à laquelle ils sont souvent associés, ils sont amenés à jouer de nombreux rôles, en sus de l'embellissement physique. Physiologiquement ou psychologiquement, ces produits peuvent avoir un impact fondamental dans l'épanouissement des utilisateurs, féminins ou masculins. De manière plus générale, ils sont un moyen facile et accessible à tous, de se faire plaisir, tout en offrant un niveau de performance croissant. Ce qui explique la demande grandissante de la population pour ce type de produits.

Si les produits cosmétiques jouent un rôle prépondérant dans le bien-être des utilisateurs, ils ne sont pas des médicaments. Ils doivent faire preuve d'une innocuité maximale. Ainsi, depuis le début des années 2000, les consommateurs sont de plus en plus vigilants quant à leur composition. Un nombre croissant d'ingrédients fait l'objet de remises en question parfois polémiques, favorisées par les médias, conventionnels ou non. Les agents conservateurs, utilisés pour préserver les produits cosmétiques des contaminations microbiologiques, et notamment les parabens et le phénoxyéthanol, sont plus particulièrement pointés du doigt. Depuis quelques années, les parabens sont accusés de favoriser la survenue de cancers du sein, tandis que le phénoxyéthanol bénéficie de la mauvaise réputation des éthers de glycol (**Cohen, 2009**).

Les plantes médicinales représentent une source inépuisable des substances et composés naturels bioactifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro, notamment la recherche de nouveaux constituants naturels tels que les composés phénoliques.

Récemment le développement de la résistance microbienne aux antibiotiques, et la toxicité des antioxydants synthétiques, a conduit de chercher des substances naturelles dotées d'activité antimicrobienne et antioxydante.

Bien que les produits cosmétiques ne doivent pas être stériles, il est nécessaire de garantir leur intégrité et de les protéger de toute altération et contamination microbienne. Afin de prolonger leur durée de vie. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, se proposant de faire le point sur ces conservateurs à partir de deux plantes *Ziziphus lotus* et *Juniperus oxycedrus*.

Chapitre I : Généralités sur les produits cosmétiques

1. Définition et Etymologie du mot cosmétique

Le mot cosmétique vient du grec *kosmêtikos*, de *kosmos* qui désigne la beauté, l'ordre, l'ornement, la parure, la belle apparence. Un mot qui, dans l'Antiquité grecque, ne s'appliquait pas qu'au ciel, mais servait à évoquer la beauté et l'ordre d'une armée prête à la bataille, et qui pouvait donc impressionner l'ennemi (**Milstein et al., 2006**). Le produit cosmétique est défini dans l'Article L5131-1 du Code de la Santé Publique : « Est une substance ou préparation destinée à être mise en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes, ou avec les dents et les muqueuses buccales, en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles.) Un produit cosmétique ne peut pas être présenté comme ayant des propriétés curatives ou préventives à l'égard des maladies humaines le produit relevant dans ce cas de la définition du médicament par présentation au sens de l'article L. 5111-1 du code de la santé publique (CSP). Aussi, il appartient aux fabricants, importateurs ou responsables de la mise sur le marché de veiller aux allégations relatives à leurs produits. Les produits destinés à être ingérés, inhalés, injectés ou implantés dans l'organisme ne sont pas des produits cosmétiques même s'ils revendiquent une action notamment sur la peau, les dents, la muqueuse buccale et/ou les phanères (cheveux, ongles) (**l'Article L5131-1.CSP**).

2. Composition d'un produit cosmétique

Les ingrédients entrant dans la composition ou susceptibles d'entrer dans la composition d'un produit cosmétique sont, également, encadrés par la directive cosmétique 761768/CEE qui prévoit dans ses annexes des listes d'ingrédients qui sont régulièrement mises à jour (**Directive n° 761768/CEE**).

- Ainsi l'annexe 1 fixe la «liste indicative par catégories des produits cosmétiques» (transposée dans un arrêté du 30 juin 2000), c'est-à-dire : crème, émulsion, gel, fond de teint etc.
- L'annexe II fixe la «liste des substances qui ne peuvent entrer dans la composition des produits cosmétiques» (transposée dans un arrêté du 6 février 2001 plusieurs fois modifié). Cette liste très longue (plus de 1000 substances) indique de manière

exhaustive toutes les molécules qui ne doivent pas entrer dans la composition d'un produit cosmétique.

- L'annexe III fixe, la « liste des substances que les produits cosmétiques ne peuvent contenir en dehors des restrictions et conditions prévues » (transposée dans un arrêté du 6 février 2001 plusieurs fois modifié) ; elle comprend entre autre depuis 2003 les 26 substances parfumées allergènes (cf. annexe II) La présence de ces 26 allergènes doit être indiquée dans la liste des ingrédients, lorsque sa concentration est supérieure :
 - à 0,001 % dans les produits à ne pas enlever par rinçage
- L'annexe IV fixe la liste des colorants autorisés
- L'annexe V fixe la liste des substances exclues du champ d'application de la directive. Les produits cosmétiques contenant les substances inscrites sur cette liste ne sont pas soumis aux dispositions de la directive, chaque État membre prend les décisions qu'il juge nécessaires. En réalité cette liste a été modifiée 7 fois, il ne reste plus dans cette annexe que le strontium et certains de ses dérivés.
- L'annexe VI fixe la « liste des agents conservateurs que peuvent contenir les produits cosmétiques» (arrêté du 6 février 2001 modifié) ; nous y reviendrons plus loin.
- L'annexe VII fixe la liste des filtres ultraviolets autorisés (arrêté du 6 février 2001 modifié.)

Les produits cosmétiques sont composés d'un nombre variable d'ingrédients, ayant chacun une fonction spécifique. Un médicament est composé d'un principe actif et d'excipients, ceux-ci n'ayant pour rôle que de favoriser la bonne absorption, distribution, métabolisation et excrétion du principe actif. La formule cosmétique, quant à elle, contient souvent un ou plusieurs agents actifs, mais les excipients y occupent un rôle prépondérant, participant à l'effet lissant d'une crème, ou à sa sensorialité, par exemple. Elle est le plus souvent composée d'une phase aqueuse et d'une phase grasse, en proportions variables, homogénéisées par des molécules ayant des propriétés émulsionnantes (**Lafforgue, 2010**).

2.1. Les ingrédients de la phase aqueuse

a. Eau : L'eau distillée constitue généralement l'ingrédient principal des formules cosmétiques (jusqu'à 85% dans certaines formules de gels douche ou shampoings !). Si l'eau distillée simple n'est pas d'un grand intérêt pour la peau, d'autres types d'eau beaucoup plus intéressants sont utilisés par certaines marques, pour leurs apports en oligoéléments : eau marine ou physimarine, thermale, eau florale ou encore eau polaire. Il est à noter que les formules les plus riches en eau disponible (non « occupée » par des liaisons avec d'autres molécules) présentent un risque accru de contamination microbienne. Il faut donc être vigilant quant à la conservation de ces produits (**Martini 2006**).

b. Alcools : Les alcools simples sont des liquides plus ou moins volatiles, miscibles à l'eau, et souvent utilisés comme solvants de produits insolubles dans l'eau. On peut citer, à titre d'exemple, l'éthanol (solvant, agent de pénétration) et l'alcool benzylique (solvant, conservateur). Les polyols, de par leur richesse en fonctions alcools, sont particulièrement hygroscopiques, ce qui leur confère des propriétés humectantes. Ils permettent d'hydrater la peau en y retenant les molécules d'eau. C'est le cas par exemple du glycérol et du sorbitol. Le propylène glycol sera, lui, plutôt utilisé pour ses propriétés solubilisantes (**Fernandez et al .2012**).

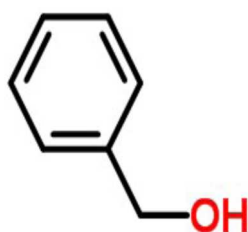


Figure 1 : Molécule d'alcool benzylique (phenylmethanol) [alcool simple] (**RSC 2015**)

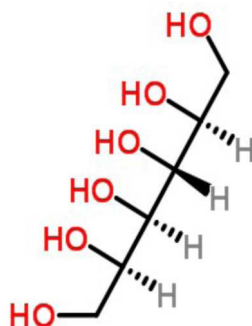


Figure 2 : Molécule de sorbitol ((2R, 3R, 4R, 5S)-Hexan-1, 2, 3, 4, 5,6-hexol) [polyol] (**RSC 2015**)

c. Agents de texture hydrophiles : Les texturants hydrophiles sont des macromolécules qui permettent d'offrir au produit sa consistance finale, en augmentant sa viscosité. Il en existe de deux types, dits épaississants et gélifiants. Les agents épaississants sont des molécules qui gonflent dans le milieu, y entraînant une gêne stérique qui permet un épaississement de la formule. De nombreuses gommes naturelles ou modifiées peuvent être utilisées à cet effet : gomme xanthane, gomme cellulosique, gomme adragante... Les agents gélifiants ont un mécanisme d'action différent. Ce sont des molécules qui se dispersent dans le milieu et y forment un réseau tridimensionnel poreux, au sein duquel le liquide de dispersion se trouve piégé et ne peut plus circuler aussi bien qu'avant l'ajout du gélifiant. La formule est comme « figée » dans ce que l'on appelle un gel. De nombreuses molécules sont disponibles sur le marché pour assurer cette fonction, qu'elles soient d'origine naturelle (bentonites, hectorites, alginates, carraghénanes, silice...) ou de synthèse pure (Carbomères obtenus par réticulation de l'acide acrylique). Les carbomères présentent l'avantage d'offrir des gels parfaitement transparents, contrairement à la plupart des gélifiants d'origine naturelle, qui donnent le plus souvent des gels translucides, voire opaques. Par ailleurs, le fait d'augmenter la viscosité des systèmes, ou de les gélifier, permet de stabiliser les émulsions (**Lafforgue, 2010**).

2.2. Les ingrédients de la phase grasse

a. Hydrocarbures : Les hydrocarbures sont constitués de chaînes carbonées et hydrogénées, linéaires, ramifiées ou cycliques, saturées ou non (voir exemple en figure 3). En formulation cosmétique, ce sont surtout les alcanes qui sont utilisés (hydrocarbures aliphatiques saturés). Ce sont des molécules lipophiles, non miscibles à l'eau, et plus ou moins occlusives. Ceci leur permet de limiter la déshydratation cutanée par perte insensible en eau (évaporation naturelle de l'eau à travers le derme et l'épiderme). De plus, leur inertie chimique implique une tolérance cutanée généralement bonne. Ils peuvent être distingués selon leur origine, minérale (paraffines, vaselines), végétale (squalane obtenu à partir d'huile d'olive) ou animale (squalane obtenu à partir du foie de requin) (**Lafforgue, 2010**).

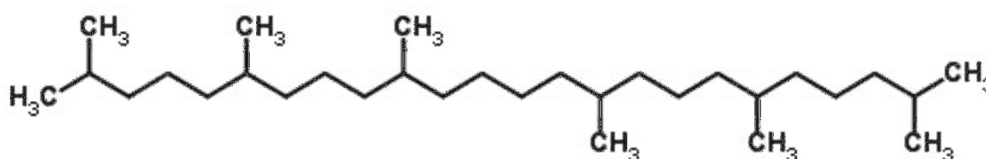


Figure 3 : Molécule de squalane (2,6, 10, 15, 19,23-Hexaméthyltétracosane) (**RSC 2015**)

b. Alcools gras : Les alcools gras sont composés de longues chaînes hydrocarbonées hydrophobes, saturées ou non, et dont l'un des carbones porte un groupement hydroxyle. En formulation cosmétique, ils offrent deux propriétés principales, en fonction de leurs caractéristiques chimiques. Les alcools gras à longue chaîne saturée ont un point de fusion élevé, et sont donc généralement utilisés comme facteurs de consistance. Ils sont occlusifs et filmogènes, et par conséquent permettent de limiter la déshydratation par perte insensible en eau. Mais cette activité occlusive et filmogène présente aussi un désagrément : ces alcools gras ont tendance à former un film blanc, désagréable à l'étalement (**Martini, 2011**). On peut citer l'exemple des alcools cétylique ou stéarique (voir figure 4).



Figure 4 : Molécule d'alcool stéarique (1-Octadécanol) (**RSC 2015**)

Les alcools gras à chaîne courte ou insaturée sont, eux, liquides à température ambiante. Ils sont donc plutôt utilisés comme émoullients, solvants, ou comme agents de dispersion de pigments (**Martini, 2011**). L'octyldodécanol (voir figure 5) est un émoullient très courant.

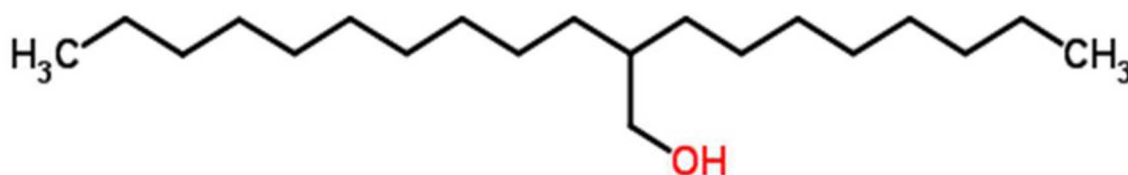


Figure 5 : Molécule d'octyldodécanol (2-Octyl-1-dodécanol) (**RSC 2015**)

c. Acides gras : Les acides gras sont composés de chaînes carbonées et hydrogénées, saturées ou non, possédant une ou plusieurs fonctions acides. Ils sont lipophiles et non miscibles à l'eau. Ceux-ci sont des composants naturels des phospholipides des membranes cellulaires, et leur apport sur la peau permet de maintenir l'intégrité de celles-ci, au niveau cutané. Les acides gras saturés à longue chaîne carbonée, comme l'acide stéarique et l'acide palmitique (voir figure 6) sont surtout utilisés comme facteurs de consistance (**Debacker, 2018**).

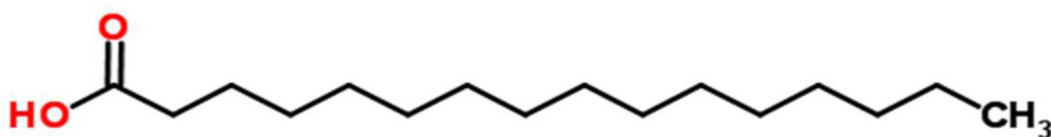


Figure 6 : Molécule d'acide palmitique (1-hexadecanoic acid) (RSC 2015)

Les acides gras insaturés sont classifiés selon leur nombre de doubles liaisons : on parle d'acide gras monoinsaturé lorsque la molécule ne contient qu'une double liaison (ce qui est le cas de l'acide oléique par exemple, voir figure 7). Lorsqu'elle en contient plusieurs, on parle d'acide gras polyinsaturé. Ces derniers ne peuvent être synthétisés par le corps humain en quantité suffisante, leur apport se fait donc uniquement de façon exogène : on parle d'acides gras essentiels (par exemple, acide linoléique [oméga-3], et acide linoléique [oméga-6]).

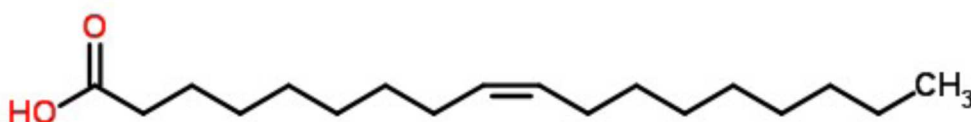


Figure 7 : Molécule d'acide oléique ((9Z)-9-Octadecenoic acid) (RSC 2015)

d. Esters d'acides gras : Les esters d'acides gras sont obtenus par estérification d'un acide gras (contenant de 2 à 22 atomes de carbone) par un alcool (contenant de 1 à 32 atomes de carbone) (Loubat-Bouleuc, 2004). La nature de cet alcool détermine la classe de la molécule finale (glycéride, céride...). Les applications des esters sont extrêmement variables, selon la structure chimique de leur molécule (longueur des chaînes, point de fusion, viscosité, facilité d'étalement...). Celle-ci leur confère différentes propriétés émulsionnantes, mouillantes, humectantes, émoullientes, solubilisantes, ou encore dispersantes. Ils sont sélectionnés en fonction de ces propriétés, mais aussi de leur capacité d'étalement, de pénétration, et leur consistance (qui est liée à leur poids moléculaire, ainsi qu'à la longueur de leur chaîne carbonée). Les esters d'acides gras apportent douceur, velouté et souplesse à la peau (Bergasson et al, 2001).

Glycérides : Les glycérides sont des esters de glycérol et d'acides gras. On parle de mon/di/triglycérides, selon le nombre de chaînes d'acides gras greffées sur la base de la molécule de glycérol (respectivement 1, 2 ou 3). Les glycérides sont caractérisées par leurs propriétés de toucher, ainsi que par leur point de fusion, qui dépend de la longueur des

chaînes d'acides gras. C'est dans les catégories des glycérides que l'on retrouve les huiles, les beurres, les graisses et les suifs, d'origine végétale, animale ou de synthèse. En cosmétologie actuelle, l'on retrouve le plus souvent des huiles et beurres végétaux, tels que les huiles d'argan ou d'olive, ou le beurre de karité. Ils sont sélectionnés en fonction de leurs propriétés d'étalement, de pénétration, de consistance, mais aussi pour les molécules actives annexes qu'ils renferment, telles que les insaponifiables riches en stérols et en vitamines liposolubles, présentant eux-mêmes un intérêt pour la peau (Lafforgue, 2010).

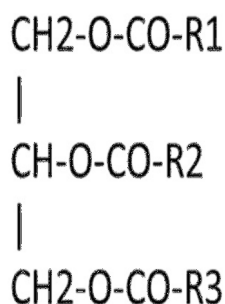


Figure 8 : Schéma d'une molécule de triglycéride, où R1, R2 et R3 sont des chaînes carbonées d'acides gras (RSC 2015)

Cérides : Les cérides sont des esters d'acides gras et d'alcools gras, présentant tous la caractéristique de porter de longues chaînes hydrocarbonées. Ils sont dotés d'une forte inertie chimique, et sont donc peu sensibles à l'oxydation. Les cérides présentent majoritairement un point de fusion élevé et sont, en conséquence, souvent utilisés comme facteurs de consistance qui ont, comme certains alcools gras, la caractéristique de laisser un film blanc « savonneux » à l'étalement (Lafforgue, 2010). On peut citer l'exemple du palmitate de stéaryle, ester de l'acide palmitique et de l'alcool stéarique (voir figure 9).

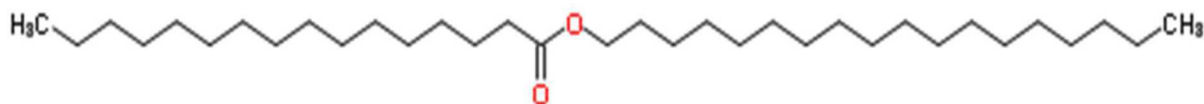


Figure 9 : Molécule de palmitate de stéaryle (Octadecyl palmitate) (RSC 2015)

Les cérides sont les composés majoritaires des cires (d'origine végétale, animale, minérale ou synthétique). On peut citer comme exemples la lanoline (cire de suint de mouton ; existe en version synthétique), la cire d'abeille, la cire de jojoba (appelée à tort « huile de jojoba »), ou

encore l'ozokérite (cire fossile pétrolifère). Ces cires contiennent, outre les cérides, des mélanges complexes de molécules, qui leur confèrent toutes leurs propriétés (Martini 2011).

Phosphatides : Les phosphatides, appelés aussi phospholipides, sont composés de deux résidus d'acides gras estérifiant un résidu glycérol lui-même estérifié par un résidu phosphate. Cet ensemble forme un acide phosphatidique, lié à l'alcool d'une molécule polaire (sérine, choline, inositol...) par liaison phosphodiester. Ce sont des composés à structure polaire amphiphile. En solution dans l'eau, ils s'organisent spontanément en bicouches lamellaires, pouvant véhiculer des molécules actives de nature lipidique dans un environnement aqueux. Ils peuvent également être utilisés comme cotensioactifs (Lafforgue, 2010). Les lécithines sont des phosphatides, comme le phosphatidylinositol, que l'on peut voir en figure 10.

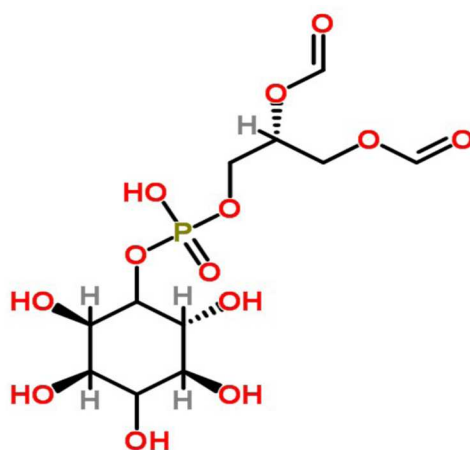


Figure 10 : Molécule de phosphatidylinositol ((2R)-3-[(Hydroxy {(2R, 3R, 5S, 6R)-2, 3, 4, 5,6-Pentahydroxycyclohexyl] oxy} phosphoryle) oxy]-1,2-propanediyl diformate) (RSC 2015)

e. Gélifiants de phase grasse : Comme pour la phase aqueuse, certains gélifiants peuvent être utilisés dans les produits cosmétiques. Ils ont pour fonction d'épaissir des formules huileuses, mais également de stabiliser les émulsions. L'exemple le plus représentatif est le silylate de silicium hydraté (Aerosil®), mais l'on peut citer également le (Gilugel®), un mélange de stéarates d'aluminium et de magnésium hydratés, associés dans une base huileuse (Martini, 2011).

2.3. Les silicones :

Les silicones, ou polysiloxanes, sont des molécules composées de chaînes silicium-oxygène, sur laquelle sont fixés d'autres groupements. Ces molécules sont utilisées en formulation

cosmétique pour différentes propriétés : douceur au toucher, bonne tolérance de la peau, des muqueuses et des yeux, effet antistatique et substantivité sur la peau et les cheveux (effet adoucissant et démêlant), bonne stabilité chimique et thermique, facilité d'étalement et propriétés lubrifiantes. Ces propriétés expliquent leur présence importante dans les formules de shampooings et après-shampooings (effet démêlant), les sérums et fond de teint effet poudré (douceur, étalement, bonne tolérance). Le fait qu'ils soient utilisés dans de très nombreux produits est cependant à leur désavantage, car leur accumulation sur la peau et les cheveux à un effet étouffant et alourdissant, sur le long terme (**Lafforgue, 2010**).

2.4. Les actifs

Même si c'est la formule cosmétique dans son ensemble qui apporte son efficacité au produit, seuls certains ingrédients de la phase grasse ou aqueuse vont être mis en avant par la marque, pour donner du crédit à ses arguments marketing, et une image glamour à la formule. C'est appelé les « actifs ». Ils se retrouvent en général en faible proportion dans la formule (2 à 3 %, voire 0,1 % pour certaines matières premières particulièrement coûteuses). Les actifs hydratants, apaisants, photo-protecteurs et anti-âges sont souvent mis en avant par les laboratoires. Par exemple, l'acide hyaluronique est l'actif hydratant « star » depuis quelques années. Ses propriétés hydratantes à très faible concentration sont particulièrement recherchées. Il sera souvent le seul ingrédient d'une formule mis avant sur l'étiquette d'un produit qui en contient. Or, l'action hydratante du produit n'est pas apportée que par cette molécule. En effet, d'autres ingrédients, plus classiques, peuvent également être mis en jeu dans la formule, comme par exemple la glycérine, associée au beurre de karité et au sorbitol (**Martini, 2005**).

2.5. Les tensioactifs

Les tensioactifs sont des molécules à caractère amphiphile. Elles sont composées d'une chaîne hydrocarbonée lipophile (capable d'attirer les molécules de nature lipidique, comme les salissures), et d'une tête polaire hydrophile (miscibles dans les composés polaires, telles que l'eau) (**Martini .2003**).



Chaîne hydrocarbonée apolaire lipophile Tête polaire hydrophile

Figure 11 : Schéma d'une molécule tensioactive (RSC 2015)

Les tensioactifs ont trois caractéristiques principales (Lafforgue, 2010) :

- La première est leur capacité à s'adsorber au niveau des interfaces, leur permettant de former des mousses (interface liquide / gaz), des émulsions (interface liquide / liquide), ou encore de mettre en suspension des particules solides dans un liquide (interface solide / liquide). (Martini, 2003).
- Leur deuxième caractéristique est leur capacité à former des micelles. A partir d'une certaine concentration, appelée « concentration micellaire critique » ou CMC, et d'une température, dite de Krafft, les tensio-actifs forment des agglomérats de quelques dizaines ou centaines de molécules, appelées « micelles ». Celles-ci sont de forme sphérique ou cylindrique, et leur diamètre varie entre 30 et 100 Å. A l'intérieur des micelles, les tensioactifs s'organisent en fonction des forces de répulsion vis-à-vis du solvant : dans l'eau, les extrémités lipophiles sont tournées vers l'intérieur de la micelle tandis que les extrémités hydrophiles se placent à l'interface de la micelle avec le solvant. Dans un solvant organique, de nature lipophile, la configuration est inversée : on parle alors de micelles « inverses ». (Rauwel et al, 2012).
- La troisième caractéristique importante des tensioactifs est la valeur de leur HLB (pour Hydrophilic / Lipophilic Balance, ou balance hydrophile / lipophile). La valeur du HLB permet de chiffrer l'équilibre existant entre la partie hydrophile et la partie lipophile de la molécule, à partir de sa solubilité dans l'eau. Les tensioactifs sont ainsi classés sur une échelle variant de 0 à 40, bornes exclues : plus la valeur du HLB d'un tensioactif est élevée, plus son caractère hydrophile est marqué. En fonction de la valeur du HLB d'un tensioactif, on peut en déduire ses propriétés principales. Celles-ci sont regroupées dans le tableau 1 ci-dessous :

Tableau I : Tableau des propriétés des tensioactifs en fonction de leur HLB (Debacker, 2018)

Propriété principale du tensioactif valeur du HLB	
Antimoussant	1.5 à 3
Emulsionnant eau dans huile (E/H)	3 à 6
Mouillant	7 à 9
Emulsionnant huile dans eau (H/E)	8 à 13
Détergent	13 à 15
Solubilisant	15 à 40

En fonction des caractéristiques qui leur sont attribuées, les molécules tensioactives sont dotées de propriétés différentes. Ainsi, un tensioactif peut avoir des propriétés tensioactives, mouillantes, moussantes, anti-moussantes, émulsionnantes, solubilisantes, détergentes, ou antiseptiques. On se base sur l'analyse de ces propriétés pour déterminer quelles molécules sont les plus adaptées à l'élaboration d'une formule recherchée (DEBACKER, 2018).

Les produits moussants (gels douche, shampooings, etc.) sont les formules les plus riches en tensioactifs. Ceux-ci sont sélectionnés notamment pour leurs propriétés moussantes et détergentes. On les classe alors selon leur nature chimique, en 4 catégories :

- les tensioactifs anioniques : sodium laureth sulfate, ammonium lauryl sulfate...
- les tensioactifs cationiques : cetrimoniumchloride, cetylpyridiniumchloride...
- les tensioactifs amphotères, dont l'ionisation varie en fonction du pH : cocamidopropylbétaine, disodiumcocoamphodiacetate...
- les tensioactifs non ioniques : laureth-4, decyl glucoside, lauryl glucoside...

La nature chimique des tensioactifs d'une formule est une caractéristique majeure, à prendre en compte lors du choix des autres ingrédients. En effet, il est possible que la présence d'un tensioactif, de par sa nature, entraîne une incompatibilité avec d'autres ingrédients de nature

opposée. Par exemple, la forte présence de tensioactifs anioniques peut annuler l'effet d'un agent conservateur de nature cationique (**Fernandez, 2012**).

2.6. Les conservateurs

Afin de protéger les produits des contaminations microbiologiques, mais également les consommateurs de toute infection pouvant en découler, il est souvent nécessaire d'avoir recours à des conservateurs au sein des formules. L'article 2 du règlement cosmétique (Article L5131-1) les définit comme des « substances qui sont exclusivement ou principalement destinées à empêcher le développement de micro-organismes dans le produit cosmétique ». Leur usage est soumis à liste positive (et restrictive, pour certains usages et certaines concentrations), qui est disponible à l'annexe V dudit règlement. Il y est également précisé, à l'article 14, qu'un produit cosmétique ne peut contenir d'agents conservateurs « autres que ceux énumérés à l'annexe V ». Afin de protéger les formules, les ingénieurs en formulation se doivent donc de sélectionner les molécules les plus appropriées à leur produit, dans l'annexe V du règlement cosmétique, et peuvent (théoriquement) utiliser d'autres molécules à cette fin. De nombreuses contraintes sont à prendre en considération dans le choix du système conservateur, en amont de la conception d'un produit cosmétique. Les conservateurs sont regroupés selon leur classe chimique. On peut citer, à titre d'exemple, les acides carboxyliques et leurs sels (potassium sorbate, sodium benzoate), les parabènes et leurs sels (methylparaben, ethylparaben), ou encore les hétérocycles que sont les isothiazolinones (methylisothiazolinone, methylchloroisothiazolinone). Ces molécules sont soumises à de nombreuses polémiques actuellement, certains étant décriés pour leur caractère irritant, allergène, hépatotoxique ou encore perturbateur endocrinien (avéré ou suspecté) (**Maleysson, 2016**).

2.7. Les antioxydants

Les antioxydants sont souvent confondus avec les conservateurs de par leur fonction protectrice de la formule. Leur rôle n'est cependant pas de « défendre » le produit de la contamination microbienne, mais de le prémunir contre les phénomènes d'oxydation. En effet, certaines formules (et notamment celles riches en corps gras) contiennent des molécules portant des doubles liaisons, facilement oxydables par contact avec l'air. L'oxydation de ces molécules induit la formation de peroxydes, avec formation d'espèces intermédiaires : les radicaux libres. Ces radicaux libres portent un électron libre et sont en conséquence

hautement instables. Ils ne se stabilisent qu'après arrachage d'un électron à une autre molécule, la transformant elle-même en radical libre. Ainsi, il s'agit là d'un phénomène autocatalytique : une fois que la réaction est amorcée, l'oxydation du produit dans son ensemble intervient rapidement. Ce phénomène dit de rancissement a pour effet de diminuer l'efficacité des produits (par dénaturation des corps gras), mais aussi de leur donner une odeur caractéristique très désagréable. Les antioxydants sont capables de retarder l'oxydation des doubles liaisons des corps gras. Certaines molécules ont une action antioxydant primaire : elles s'oxydent à la place des acides gras et, contrairement à ces derniers, donnent des composés stables (butylhydroxytolène ou BHT, butylhydroxyanisole ou BHA, tocophérol). D'autres ont une action antioxydant secondaire : soit elles prolongent la vie des antioxydants primaires (acide ascorbique), soit elles séquestrent les métaux prooxydants comme le cuivre et le fer (acide citrique, lécithines), soit elles sont capables de piéger l'oxygène sous forme singulet (bêta-carotène) (**Judde, 2004**).

2.8. Les agents chélatants

Les agents chélatants, aussi appelés séquestrants, sont des ligands qui présentent la capacité de se lier aux cations métalliques. Il s'agit généralement de composés organiques qui contiennent des groupes anioniques et des atomes donneurs d'électrons. Ceux-ci se substituent par liaison forte aux molécules d'eau de solvation associées aux ions métalliques, et forment ainsi des composés stables, nommés chélates (**Gervai, 2016**).

Les rôles de ces agents chélatants sont divers en formulation cosmétique. Les cations métalliques sont souvent présents dans les matières premières, à titre d'impuretés inévitables. Ils inhibent leur croissance dans le produit. Ils servent de substrat à certaines bactéries. Le fait de les chélater les rend indisponibles pour En outre, certains cations (dérivés du fer et du cuivre) jouent le rôle de catalyseur pour les réactions d'oxydation. Le fait de les chélater permet de les rendre indisponibles pour initier ou entretenir les réactions d'oxydation. D'autres cations (dérivés du calcium et du magnésium) sont présents dans l'eau dure. Ils précipitent avec les molécules de savon et les rendent inefficaces : on obtient un savon qui ne lave pas, et ne mousse pas, une fois en contact avec l'eau du robinet. Le fait d'ajouter dans la formule des agents séquestrants permet de chélater ces ions et donc de booster l'effet détergent et moussant du savon. Les agents chélatants peuvent donc avoir plusieurs fonctions en formulation : booster de conservation, antioxydant, ou encore booster de mousse et de détergence (**INERIS, 2011**).

Les sels d'acide éthylène diamine tétraacétique (tetrasodium EDTA, disodium EDTA) sont les molécules référentes en matière de chélation. Leur usage est cependant sujet à polémique, de par pour leur faible biodégradabilité. Ils peuvent être remplacés par d'autres molécules, synthétiques (tetrasodium glutamate diacetate), ou d'origine naturelle (phytate de sodium, acide citrique, acide oxalique), bien que ces alternatives se révèlent souvent moins efficaces que les dérivés d'EDTA (DEBACKER, 2018).

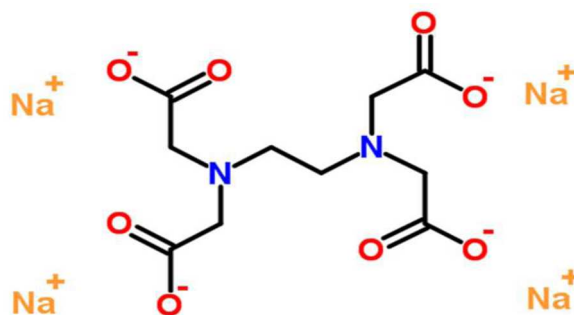


Figure 12 : Molécule de tetrasodium EDTA (Tetrasodium 2,2',2'',2'''-(1,2ethanediyl)dinitrilo) (Tetraacetate) (RSC 2015)

2.9. Les filtres ultraviolets (UV)

Les filtres UV sont, eux aussi, définis à l'article 2 du règlement cosmétique (Règlement CE n°1223,2009). Il s'agit des « substances qui sont exclusivement ou principalement destinées à protéger la peau de certains rayonnements ultraviolets en absorbant, réfléchissant ou dispersant ces rayonnements » (Règlement CE n°1223,2009). Ils sont utilisés dans les crèmes solaires, afin de protéger la peau des effets délétères des rayonnements UVA et UVB (brûlures et vieillissement cutané principalement). Il faut distinguer les filtres UV des absorbeurs UV qui sont destinés à protéger la formule des attaques des rayonnements UV. Ceux-ci ne font pas partie de la liste positive mais sont toutefois autorisés dans les produits cosmétiques, comme la benzophenone-1, par exemple (Lafforgue, 2010).

2.10. Les matières colorantes et les opacifiants

Afin de modeler l'esthétique d'un produit cosmétique, il est courant d'utiliser des colorants (qui sont, eux aussi, soumis à liste positive et restrictive et figurent à l'annexe IV du règlement cosmétique. L'article 2 de ce règlement les définit comme « les substances qui sont exclusivement ou principalement destinées à colorer le produit cosmétique, l'ensemble du corps ou certaines parties de celui-ci, par absorption ou réflexion de la lumière visible ; les

précurseurs de colorants capillaires d'oxydation sont également considérés comme des colorants ». On distingue deux types d'agents colorants : solubles (colorants « vrais »), et particuliers insolubles (pigments et nacres). Est utilisé également des agents opacifiants, souvent dérivés de l'acide acrylique, comme le Styène/Acrylates copolymer. Ils permettent de donner un aspect lacté aux formules transparentes (**Lafforgue, 2010**).

Ainsi, les formules cosmétiques sont constituées d'une multitude d'ingrédients. Chacun a une fonction particulière, mais est aussi susceptible d'interagir avec d'autres molécules du produit (interaction inhibitrice ou synergique). Chacune de ces interactions doit être envisagée afin d'optimiser au maximum la conception de la formule. Un soin tout particulier doit être apporté au choix du conservateur, garant de la sécurité du produit dans le temps. La sécurité du produit est d'ailleurs l'objectif principal de la législation spécifique qui encadre les produits cosmétiques (**Debacker, 2018**).

3. La réglementation des produits cosmétiques

Il existe des obligations à respecter avant la mise sur le marché des produits cosmétiques et des Obligations à respecter après leur mise sur le marché (**Ansm, 2014**). Le règlement cosmétique est composé de 71 considérants, 40 articles et 10 annexes. Il impose des règles concernant la composition, l'étiquetage et l'emballage des produits cosmétiques. Il exige, entre autres, la constitution d'un dossier d'Information sur le Produit (DIP), pour tout produit mis sur le marché. Des listes positives, négatives ou restrictives pour les ingrédients constituent certaines de ses annexes. Auparavant, et depuis 1976, l'industrie cosmétique était soumise aux obligations de la Directive CEE 76/768/CEE du Conseil du 27 juillet 1976 concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques (**Directive, 2003**).

Or, une directive étant par nature transposable, plus ou moins fidèlement, par chaque Etat membre de l'Union européenne, il existait toujours des disparités selon les pays. Le règlement, directement applicable par les Etats membres, harmonise de manière exhaustive les règles en vigueur dans la Communauté européenne. Ceci afin d'établir un marché intérieur des produits cosmétiques, tout en assurant un niveau élevé de protection de la santé humaine. Le règlement (CE) n° 1223/2009 du Parlement européen et du Conseil du 30 novembre 2009 relatif aux produits cosmétiques depuis le 11 juillet 2013, dénommé "règlement cosmétique". Les annexes de ce règlement sont régulièrement mises à jour par des règlements de la

Commission européenne, et Le Code de la santé publique (CSP), notamment les articles L.5131-1 à L.5131-8 et L.5431-1 à L.5431-9 issus de la loi n° 2014-201 du 24 février 2014 portant diverses dispositions d'adaptation au droit de l'Union européenne dans le domaine de la santé ainsi que les articles R.5131-1 à R.5131.5 issus du décret n°2015-1417 du 4 novembre 2015 relatif aux produits cosmétiques et aux produits de tatouage et les articles R.5431-1 à R.5431-3. Le règlement (CE) n° 1223/2009 régit la liste des ingrédients interdits ou soumis à restriction. Ainsi figurent :

- **Les substances interdites** (annexe II) : toutes les substances cancérigènes, mutagènes ou toxiques pour la reproduction appartiennent à cette catégorie. Elles sont interdites dans les cosmétiques.
- **Les substances soumises à restriction** (annexe III).
- **Les substances autorisées** en tant que :
 - colorants (annexe IV).
 - conservateurs (annexe V).
 - filtres ultraviolets (annexe VI).

Les conservateurs utilisés dans les cosmétiques figurent donc obligatoirement dans l'annexe V et, pour chacun d'entre eux, la concentration maximale autorisée en fonction du type de produit cosmétique et de la population cible y est spécifiée. Ces annexes évoluent avec les connaissances scientifiques et sont donc très régulièrement mises à jour (**annexe V**).

Ainsi, selon l'article 3 du Règlement CE n° 1223/2009 : *“Un produit cosmétique mis à disposition sur le marché est sûr pour la santé humaine lorsqu'il est utilisé dans des conditions d'utilisation normales ou raisonnablement prévisibles compte tenu de l'étiquetage et des instructions concernant l'utilisation et l'élimination.”* (**Règlement CE n° 1223/2009**).

La liste des ingrédients est obligatoire sur le packaging d'un produit cosmétique. Ils figurent selon la dénomination INCI (*International Nomenclature of Cosmetic Ingredients*) avec le nom en anglais pour les substances chimiques et en latin pour les ingrédients naturels. Les ingrédients sont classés du plus concentré au moins concentré. Doivent figurer également la période après ouverture (PAO) et la date limite d'utilisation (DLU) (**INCI, 2009**)

Il existe également une réglementation européenne (n°1907/2006) : la réglementation REACH qui recense, évalue et contrôle toutes les substances chimiques fabriquées, importées et mises sur le marché européen. Le principe étant : *“Pas de donnée, pas de marché.”* Le

31/05/2018, en Europe, 20 000 substances chimiques étaient connues et leurs risques potentiels établis. (**Règlement (n°1907/2006)**).

Chapitre II : Conservation des produits cosmétiques

1 Introduction et définition

Bien que les produits cosmétiques ne doivent pas être stériles, il est nécessaire de garantir leur intégrité et de les protéger de toute altération et contamination microbienne. Afin de prolonger leur durée de vie, les fabricants ont recours à l'utilisation de conservateurs, dont la liste positive se trouve en annexe V du règlement cosmétique. La réglementation cosmétique ((CE) n°1223/2009) définit par agents conservateurs« *les substances qui sont exclusivement ou principalement destinées à empêcher le développement de micro-organismes dans le produit cosmétique* ». Cette définition n'inclue donc pas les actions contre la dégradation chimique apportées par les antioxydants par exemple (**Directive n° 761768/CEE**).

2 Contamination microbienne des produits cosmétiques

Elle peut survenir lors des diverses étapes de la vie du produit et être de sources multiples :

Les origines Liée aux matières premières (MP): L'eau est la principale matière première utilisée comme ingrédient ou agent de nettoyage ou de rinçage des locaux. Elle est donc le constituant le plus souvent incriminé comme à l'origine des contaminations accidentelles. De plus, la multiplication microbienne ne peut se faire que dans les produits contenant une phase aqueuse, ce qui fatigue aussi la dissémination de la contamination à tout le contenu du récipient. En matière de contamination liée à l'eau, il faut aussi parler des biofilms (ensemble des bactéries adhérentes à une surface et engluées dans les exopolymère issus du métabolisme microbien) qui se forment dans les tuyauteries et qui sont fréquemment à l'origine de contaminations persistantes dans les produits finis. Les autres matières premières peuvent aussi être à l'origine de contamination (produits d'origine végétale, animale, tellurique ...), dans ce cas, le danger c'est qu'ils peuvent servir de nutriments aux micro-organismes [(**Martini et al. 2006**) ; (**Pitt et al. 2015**)].

Liée aux locaux et au matériel : La contamination peut être due à la réalisation de certaines opérations dans des locaux ou du matériel inadaptés ou insuffisamment protégés des causes de pollution : courant d'air, humidité, eau stagnante etc. [(**Martini et al. 2006**) ; (**Pitt et al. 2015**)].

Liée au personnel : Le personnel de fabrication, de conditionnement et d'entretien, représente également une source non négligeable de contamination, par les germes dont il est porteur

même en l'absence de toute pathologie infectieuse (germes présents sur la peau, cheveux, salive, vêtements etc.) (SMITH et al 2005).

Liée au conditionnement primaire : Certains conditionnements primaires peuvent être à l'origine de contaminations du produit fini comme les articles de conditionnement (flacons, tubes etc.) emballés directement dans des cartons peuvent entraîner une contamination du produit par des moisissures véhiculées par des particules de carton (Smith et al 2005)

Liée au consommateur : En effet il peut lui aussi être à l'origine de la contamination du produit. Soit en favorisant l'entrée d'air lors du prélèvement (flacon à large ouverture, pot, tube souple, pompes distributrices), soit en introduisant de l'eau lors de l'utilisation ou de la refermeture (shampooing et gels douches), ou encore en effectuant des gestes qui favorisent l'inoculation du produit (prélèvement avec le doigt, remise dans le récipient de l'excédent de produit prélevé etc.). Les micro-organismes susceptibles de contaminer les produits cosmétiques sont donc ceux faisant partie de notre environnement au quotidien. Il s'agit surtout de bactéries (par exemple *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), mais des champignons microscopiques (par exemple les espèces du genre *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*) et levures (par exemple *Candida albicans*, ou les espèces du genre *Saccharomyces*) peuvent également s'y retrouver (SMITH et al 2005).

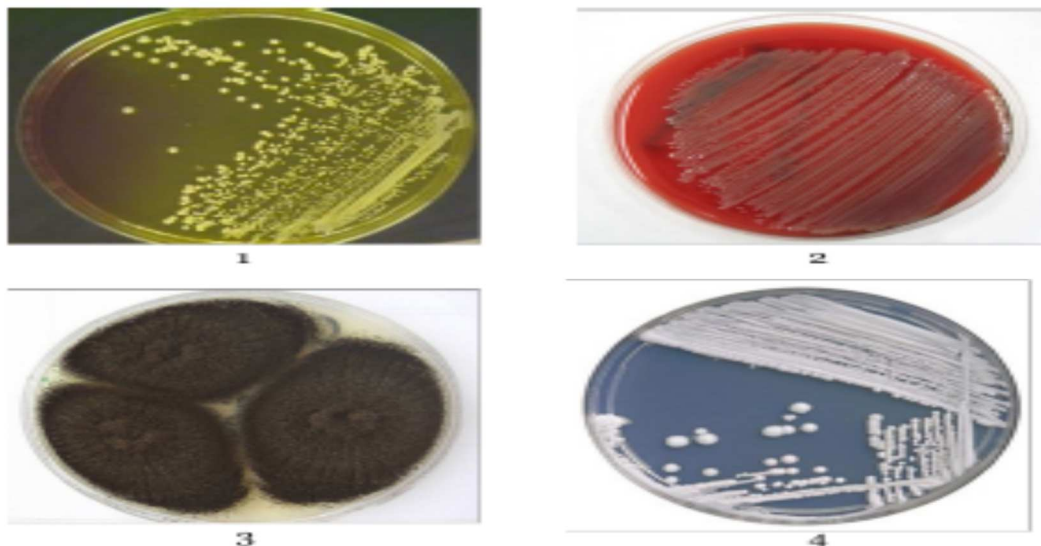


Figure 13 : Principaux micro-organismes responsables de la contamination des produits cosmétiques **1 :** *Staphylococcus aureus* (Micromol .2017); **2 :** *Pseudomonas aeruginosa* (Emlab .2017) **3 :** *Aspergillus brasiliensis*; (Medchrome 2010) **4 :** *Candida albicans* (FCI .2017)

2.1 Conservateurs antimicrobiens

Au sens strict et d'après le règlement cosmétique, les agents conservateurs sont des substances « *exclusivement ou principalement destinées à empêcher le développement de micro-organismes dans le produit cosmétique* ». Elles protègent les produits de la contamination par des microorganismes, comme les bactéries et les champignons, durant leur conservation et leur utilisation par les consommateurs. Ils peuvent prolonger la durée de validité des produits cosmétiques (ICCR, 2014).

2.2 Rôle et mode d'action des conservateurs antimicrobiens

Les conservateurs antimicrobiens sont utilisés pour pallier toute contamination ou prolifération microbienne. Ils sont utilisés dans les produits contenant une phase aqueuse et peuvent être de deux types selon les organismes visés : antibactériens (contre les bactéries) et antifongiques (contre les champignons microscopiques) (Mussard 2006).

Deux mécanismes d'action existent selon les conservateurs utilisés : ils peuvent soit tuer les micro-organismes (conservateurs bactéricides ou fongicides) ou inhiber leur croissance (conservateurs bactériostatiques ou fongistatiques). Un aspect très important de la conservation est que l'action des conservateurs se fait toujours sur les cellules microbiennes uniquement, et non sur les cellules humaines. Ceci est dû à la différence de structure entre les deux types de cellules. Par ailleurs, l'action des conservateurs se fait à travers de nombreux points d'attaque. Concernant le mode d'action des conservateurs sur les cellules microbiennes, celui-ci varie selon le type de conservateur (Williamson *et al*, 2017).

En effet, les conservateurs peuvent agir en dénaturant les protéines situées au niveau de la paroi cellulaire bactérienne, sur les membranes, la synthèse des protéines ou encore en altérant les systèmes enzymatiques et en dénaturant les acides nucléiques pour modifier le système de reproduction des cellules eucaryotes (Mussard 2006). Cela affecte directement le transport et la production d'énergie. Plus spécifiquement, les parabènes, qui sont les conservateurs les plus utilisés durant de nombreuses années, perturbent le potentiel électrique de la membrane pour bloquer la production d'énergie et le transport de nutriments essentiels à la survie de la bactérie (Brannan, 1995).

Finally, according to the incorporated dose, the action of preservatives is more or less important and can go from a simple inhibition of microbial growth to an irreversible destruction of micro-organisms (**Travassos et al. 2011**).

2.3 Les conservateurs autorisés

Annex V of the European cosmetic regulation 1229/2009 (**Annexe 1**) lists a dozen preservatives, all synthetic, authorized in cosmetics. The most famous among them are the esters of 4-hydroxybenzoic acid, more known under the name of **parabens**, or parabens (**parahydroxybenzoates**), which have long been at the head of preservatives the most used, since even in 2010, they were found in nearly 80 % of cosmetics. Four of them are authorized in cosmetics: the methyl ester (methylparaben, *Methylparaben*), ethyl ester (ethylparaben, *Ethylparaben*), propyl ester (propylparaben, *Propylparaben*) and butyl ester (butylparaben, *Butylparaben*) of 4-hydroxybenzoic acid, the methyl- and propylparaben being the most used. Despite their effectiveness, their use is becoming less important, parabens are suspected to present an oestrogenic effect (**Kiyama et al. 2015**), or negative effects on male fertility during childhood (**Castelain et al. 2012**).

Often used in mixture for their synergistic effect and in order to guarantee a wide spectrum of antimicrobial activity, they have represented a low-cost solution for manufacturers, who have been, more and more, obliged to turn to other alternatives in order to respond to the requirements of consumers. In return, these synthetic alternatives to parabens are not necessarily more reassuring or less offensive (**Florence, 2017**).

Here are some examples of preservatives which are, themselves, highly controversial:

- Phenoxyethanol: it belongs to the family of glycol ethers. ANSM recommends, concerning children under 3 years old, to avoid the use of phenoxyethanol in cosmetics intended for the face and to reduce the concentration in phenoxyethanol to 0,4 % instead of 1,0 % in all other types of products (**ANSM, 2016**).

- Triclosan: often present in toothpastes and in certain soaps, it is also accused of being an endocrine disruptor, with notably an anti-androgenic activity (**Kiyama et al. 2015**). Even though the *Food and Drug Administration* (FDA, American Agency for Food and Drugs) has partially banned it in the United States in

octobre 2016, il est toujours autorisé en Europe. Il est néanmoins interdit dans les produits de rasage depuis le 30 octobre 2014, et sa concentration est limitée à 0,2 % dans les bains de bouche (**Kabir et al. 2015**).

- La méthylisothiazolinone (MIT) : elle est connue pour son fort pouvoir allergisant, même utilisée à très faible concentration (0,01 %). Ainsi, le Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs (CSSC) de la Commission Européenne recommande une utilisation de 0,0015 % pour les produits à rincer, et ne considère pas comme sûre la concentration autorisée de 0,01 % pour les produits sans rinçage en raison des risques de développement d'allergies de contact par les consommateurs (**CSSC, 2016**).

- Le formaldéhyde : gaz également connu sous le nom de formol lorsqu'il est sous forme de solution aqueuse, il a longtemps été utilisé pour ses propriétés conservatrices. En revanche, il est nocif par inhalation et classé 1B selon la classification CMR (Cancérogène, Mutagène, Reprotoxique), ce qui représente un risque CMR présumé pour l'homme. Malgré tout, son utilisation est autorisée dans les produits pour ongles, et plus spécifiquement les durcissant pour ongles. Par ailleurs, il est également connu comme étant allergène cosmétique le plus fréquent en raison de ses pouvoirs irritant (**Travassos et al. 2011**).

En outre, des substances libérant du formaldéhyde sont autorisées par la liste positive des conservateurs, notamment la diméthylhydantoïne, la diazolidinyl urée ou encore le Quaternion. Toujours selon l'annexe V du règlement cosmétique, « tous les produits finis contenant du formaldéhyde ou des substances de la présente annexe et libérant du formaldéhyde doivent reprendre obligatoirement sur l'étiquetage la mention «Contient: *Formaldehyde*» dans la mesure où la concentration en formaldéhyde dans le produit fini dépasse 0,05 % ». Cette mesure se veut rassurante pour le consommateur, qui est assuré d'utiliser des produits en toute transparence puisqu'il sait ce qu'ils contiennent (**Prescott et al., 2003**).

En résumé, les conservateurs synthétiques, bien que souvent appréciés par les fabricants pour leur faible coût et leur efficacité à faible concentration, présentent un risque lié à leurs potentiels effets secondaires, et n'en sont donc pas moins inoffensifs. Même si les concentrations fixées par la réglementation sont considérées comme sûres car en-deçà du seuil de toxicité, l'effet à long terme de ces produits est souvent trop peu connu et, par conséquent, imprévisible (**Yimet al. 2014**).

En effet, la dose maximale autorisée en conservateurs est très variable, et se situe entre 0,004 % pour le chlorure d'argent et 2,5 % pour l'acide benzoïque. Les fabricants choisissent généralement d'utiliser un mélange de conservateurs en concentrations faibles afin d'obtenir une efficacité maximale tout en couvrant un large spectre microbien. Leur dosage est également plus ou moins important selon les risques de contamination. En effet, un produit contenant peu d'éléments nutritifs pour les micro-organismes ne nécessitera qu'une faible dose de conservateur, et vice-versa (**Rolland, 2004**)

En plus de prévenir les risques de contamination microbienne par l'ajout de conservateurs, les fabricants doivent également pallier les risques de dégradation des produits cosmétiques contenant des corps gras, très sensibles à l'oxydation. Ils ont alors recours à des agents antioxydants permettant de protéger ces corps gras. Cette catégorie de conservateurs n'est cependant pas réglementée de manière spécifique en-dehors du règlement cosmétique (**Florence, 2017**).

3 L'oxydation en cosmétique : introduction et définitions

De manière générale, l'oxydation correspond à une réaction chimique d'oxydoréduction, par exemple de type radicalaire lorsqu'elle se produit en présence de radicaux libres, espèces chimiques hautement réactives et instables du fait de la présence d'un ou plusieurs électrons non appariés. Ces espèces cherchent à se stabiliser en prenant un ou plusieurs électrons à une substance voisine. La substance perdant un électron se retrouve oxydée, et le radical libre gagnant un électron s'en trouve réduit. Les radicaux libres peuvent être oxygénés sous forme de ROS (*Reactive Oxygen Species*, espèces réactives de l'oxygène) ou azotés sous forme de RNS (*Reactive Nitrogen Species*, espèces réactives de l'azote). Ces composés sont présents naturellement dans notre organisme et impliqués dans de nombreux processus, physiologiques ou pathologiques (**Simon et al .2000, Houée-levin et al 2005**)

En cosmétique, les radicaux libres sont souvent générés par l'influence de sources exogènes, qui agissent comme catalyseurs des réactions d'oxydation. On peut citer notamment l'oxygène, la température, les rayons UV, ou encore certains métaux et enzymes. D'autres radiations comme les rayons X et gamma, ou encore les produits chimiques réagissant pour former des peroxydes (par exemple l'eau oxygénée) ou des superoxydes (par exemple les quinones), tout comme ceux métabolisés en radicaux (par exemple les phénols) ou ceux qui

gènèrent du fer (par exemple la ferritine) peuvent également être sources de radicaux libres. **Olivero-Verbel et al, 2010**).

Dans les produits cosmétiques, ce sont les corps gras qui sont les plus sensibles à l'oxydation. Ils proviennent par exemple d'huiles végétales, cires et phospholipides d'origine naturelle. Lorsqu'ils ne se trouvent plus dans leur environnement d'origine, c'est-à-dire les cellules végétales, ils ne sont plus protégés contre les altérations telles que l'oxydation ou la lipolyse (la dégradation par des enzymes telles que la lipase). L'oxydation est la principale cause de dégradation des acides gras insaturés dans les produits cosmétiques (**Fernandez et al. 2012**)

La réaction classique d'oxydation se déroule en trois étapes (**Figure 2**) : l'initiation, la propagation et la terminaison. Au cours de l'initiation, des radicaux libres sont générés. Ensuite, au cours de la propagation, se forment tout d'abord des peroxydes, qui sont des composés primaires d'oxydation évoluant ensuite en composés secondaires d'oxydation, par exemple des composés aldéhydiques responsables de l'apparition du phénomène de rancissement. Des fonctions oxydées apparaissent enfin, et le stade de rancissement est alors avancé et perceptible au niveau olfactif et visuel. Le stade de terminaison, quant à lui, correspond à la formation de produits non radicalaires mais il est rarement atteint dans les produits cosmétiques en raison de la faible durée de vie des produits oxydés (**Judde 2004**).

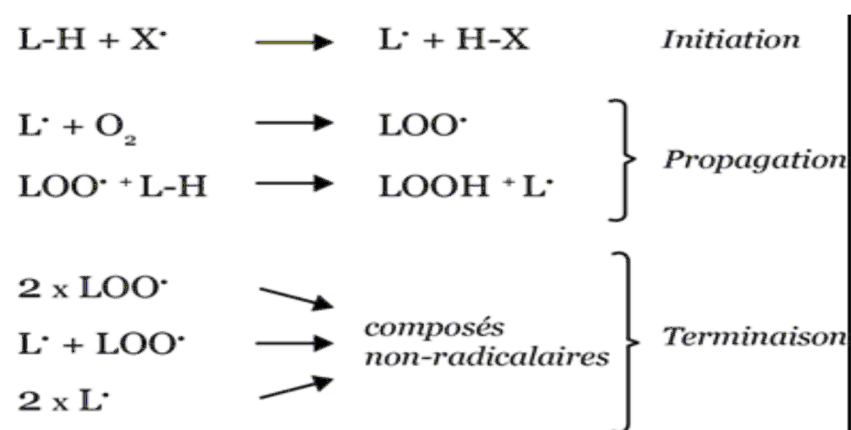


Figure 14 : Le mécanisme général de l'oxydation Exemple de la peroxydation lipidique (L^{\cdot} : radical lipidique)

Dans les produits cosmétiques, le rancissement oxydatif des acides gras est plus spécifiquement une peroxydation lipidique, et se produit de manière spontanée (autoxydation) en présence d'oxygène atmosphérique. Ce phénomène conduit non seulement au rancissement

des acides gras oxydés, mais également à la formation de peroxydes et d'aldéhydes pouvant présenter une toxicité pour la peau (Cillard et al. 2004).

La nature des acides gras contenus par les corps gras influence fortement leur sensibilité à l'oxydation. En effet, en-dehors de leur chaîne carbonée plus ou moins longue et de leur fonction carboxylique, les acides gras peuvent contenir une ou plusieurs doubles liaisons, ou aucune. La ou les double(s) liaison(s) portée(s) par les acides gras constitue(nt) des sites réactionnels favorisant les phénomènes d'oxydation. Ainsi, les acides gras insaturés, qu'ils soient sous forme libre ou sous forme d'esters (triglycérides), sont les composés les plus sensibles à l'oxydation. À l'inverse, les acides gras saturés tels que l'acide stéarique ou l'acide palmitique, ne portant aucune double liaison, sont beaucoup plus stables (Florence, 2017).

3.1 Rôle, mode d'action et exemples d'antioxydants

De manière générale, un antioxydant est une substance qui retarde, prévient ou empêche les dommages oxydatifs causés sur une molécule cible (Rolland, 2004).

En cosmétique, des antioxydants sont incorporés dans les produits pour deux raisons : en tant qu'additifs, ils permettent d'empêcher le rancissement des ingrédients sensibles à l'oxydation, principalement les acides gras, huiles, et cires, mais également certains surfactants, parfums ou certaines vitamines liposolubles, et ainsi de prévenir la dégradation du produit. En outre, ils permettent de protéger les antioxydants présents en tant qu'actifs (Florence, 2017). En effet, ces derniers doivent demeurer intacts jusqu'à l'application du produit cosmétique, et permettent alors de protéger les cellules de la peau de ce même stress oxydatif, et ainsi de retarder le vieillissement de la peau (Hal, 2003).

Les antioxydants utilisés sont eux-mêmes sensibles à l'oxydation, et permettent ainsi de stopper les réactions d'oxydation en neutralisant les radicaux libres qui en sont responsables. En effet, les antioxydants ont la capacité de donner un ou plusieurs électrons aux radicaux instables, ce qui permet de les rendre stables et donc « inoffensifs », et par conséquent de protéger les molécules voisines qui seraient sensibles à l'oxydation ((Maillard, 2013).

Bien que les mécanismes d'action des antioxydants soient variés, il existe deux grands types d'antioxydants : les antioxydants primaires, ou « *chainbreaking* », et les antioxydants secondaires ou préventifs. Les antioxydants primaires agissent au niveau de la propagation en

interrompant les réactions en chaîne provoquées par les espèces radicalaires, c'est pourquoi on les appelle également antioxydants antiradicalaires. Ainsi, ils s'oxydent en lieu et place des acides gras, et se stabilisent sous une forme non-radicalaire (**Figure 3**). Ces antioxydants sont tous des molécules possédant une fonction hydroxy X-H avec un hydrogène H labile. On retrouve par exemple dans cette catégorie les antioxydants synthétiques les plus connus tels que le BHT (Butyl hydroxytoluène), le BHA (Butylhydroxyanisole), la TBHQ (Tert-Butylhydroquinone) ou encore les esters de l'acide gallique, également appelés gallates, dont le plus connu est le gallate de propyle (**Cillard et al.2006**), (**Rolland 2004**).

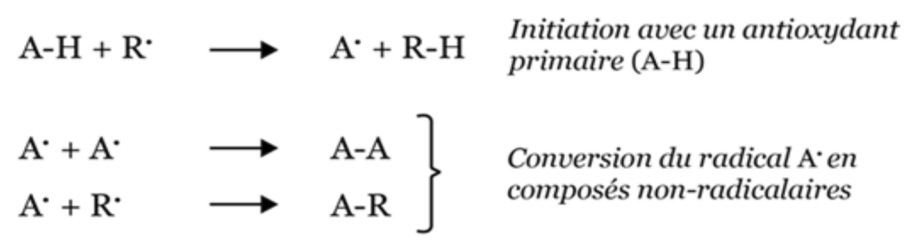


Figure 15 : Mécanisme d'action d'un antioxydant primaire

Les antioxydants secondaires, quant à eux, s'opposent à l'oxydation des lipides dès l'initiation, et plus particulièrement à la formation des espèces radicalaires initiatrices de la peroxydation lipidique. Ils agissent en synergie avec les antioxydants primaires, ce qui permet de prolonger la durée de vie de ces derniers. C'est le cas notamment de l'acide ascorbique ou vitamine C ou du palmitate d'ascorbyle, forme liposoluble de la vitamine C, qui agissent comme séquestrants d'oxygène (**Cillard et al.2006**), (**Rolland 2004**).

Il existe également des antioxydants secondaires chélateurs de métaux, permettant le piégeage des métaux prooxydants comme le fer ou le cuivre, par exemple l'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique), l'acide citrique, l'acide phytique ou encore le gluconate de sodium. Ces chélateurs, en fixant les cations métalliques libres pour créer des complexes stables, empêchent les ions métalliques de se fixer sur les ingrédients sensibles et de provoquer leur oxydation. Leur action est donc indirecte, mais permet de compléter l'activité des autres agents antioxydants présents. Il existe également des antioxydants secondaires à rôle spécifique, permettant une action sur l'oxygène. Les carotènes, par exemple, possèdent la capacité de piéger l'oxygène singulet intervenant dans le cas d'une oxydation induite par la lumière et joue ainsi un rôle protecteur en présence de rayons ultra-violettes (**Cillard et al.2006**), (**Rolland 2004**).

Souvent, les antioxydants sont associés dans les formules cosmétiques afin de maximiser l'effet synergique et de prolonger au maximum la durée de vie du produit. Il est important de considérer différents paramètres tels que leur présentation (liquide, poudre), leur solubilité (hydrosolubilité ou liposolubilité) ou leur stabilité thermique afin d'assurer une intégrité et une homogénéité parfaite de tous types de formulations. (GOLDEN et al 2005)

Une bonne connaissance des matières premières incorporées aux formulations cosmétiques est alors indispensable pour adapter l'antioxydant qui sera éventuellement incorporé et sa concentration, qui est généralement de l'ordre de 0,02 à 0,05 %³⁴(Florence, 2017).

3.2 Les controverses liées aux antioxydants de synthèse

Les antioxydants de synthèse sont souvent préférés à leurs alternatives naturelles en raison de leur moindre coût et de leur facilité d'utilisation. Néanmoins, la question de leur innocuité, tout comme celle des conservateurs antimicrobiens de synthèse, est régulièrement soulevée par de nombreuses études scientifiques. Le BHA, par exemple, figure dans un rapport publié par le programme national de toxicologie (*National Toxicology Program*) des Etats-Unis et y est répertorié comme substance potentiellement cancérigène (NTP, 2014). Le centre international de recherche contre le cancer classe également le BHA comme étant potentiellement cancérigène, et le BHT comme substance dont l'innocuité ne peut être démontrée (Fernandez et al. 2012). Par ailleurs, le BHA a fait l'objet d'études lui attribuant des effets endocriniens (Pop et al. 2013).

En résumé, les agents synthétiques incorporés dans les produits cosmétiques, qu'ils soient à visée antimicrobienne ou antioxydant, suscitent de vives polémiques car leurs effets à long terme et surtout à forte concentration sur l'organisme humain sont peu ou pas du tout connus. Les fabricants se tournent de plus en plus vers des alternatives. (Dongmo et al., 2010).

4 Les alternatives naturelles aux conservateurs synthétiques

Dans l'optique de rassurer le consommateur, souvent dubitatif face à la composition rarement transparente des produits cosmétiques, les fabricants ont recours à des ingrédients d'origine naturelle, qui peuvent être de différents types. Il peut s'agir par exemple d'extraits végétaux (huiles essentielles ou extraits obtenus par solvants) à la composition complexe, ou encore de composés purs (Fernandez et al, 2012).

4.1 Les huiles essentielles

Selon la définition de la Pharmacopée Européenne, l'huile essentielle est un :

« Produit odorant, généralement de composition complexe, obtenu à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, soit par un procédé mécanique approprié sans chauffage. Une huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition ».

Les matières premières végétales qui sont utilisées pour la production d'huiles essentielles sont en général des plantes ou parties de plantes présentes à différents états de siccité (forme sèche, flétrie, fraîche). En effet les HE peuvent être bio synthétisées dans tous les organes de la plante, végétatifs et reproducteurs (parties aériennes, fleurs, bouton floral, feuille, écorce, bois, racine, bulbe, rhizome, fruit, zeste du fruit, graine). Certaines huiles essentielles sont dotées de propriétés antibactériennes, antivirales et antifongiques pouvant donc agir sur une grande diversité de germes. Elles sont utilisées en tant que conservateurs dans les produits cosmétiques naturels ou BIO (**Barnnane, 1996**).

L'activité antibactérienne d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique, notamment aux groupes fonctionnels des composés majoritaires (alcools, phénols, composés terpéniques et cétoniques) (**Diladino et al, 2008**).

Le thymol et l'eugénol, deux phénols qui composent certaines HE, sont responsables des activités fongicides et bactéricides. Les monoterpénols sont également dotés d'activité antibactérienne, c'est le cas du géraniol, du linalool, du terpinéol et du menthol pour les plus connus. (**Diladino et al, 2008**).

4.2 Les extraits naturels obtenus à l'aide de solvants

D'autres extraits naturels peuvent être obtenus à l'aide de solvants aqueux ou organiques. Le principe de base pour l'obtention d'un extrait végétal est une extraction solide/liquide. Au contact d'un solvant ou d'un mélange de solvants, les constituants solubles sont séparés de la partie végétale (feuilles, branches, racines, plante entière...), entière ou broyée. L'extrait obtenu est ensuite généralement filtré, puis concentré sous vide afin d'obtenir un extrait brut, souvent de couleur foncée et de texture pâteuse. De nombreux paramètres peuvent être définis et ajustés dans la méthode d'extraction choisie, comme par exemple la durée d'extraction, la

température d'extraction, le recours à une agitation mécanique ou magnétique, mais les techniques d'extraction peuvent également faire appel à des technologies d'assistance plus modernes telles que la mise en œuvre d'une haute pression, ou encore l'application d'ultrasons ou l'extraction par micro-ondes. Des outils très sophistiqués comme l'extraction au dioxyde de carbone supercritique ou à l'eau su critique ont été développés, permettant, dans des conditions spécifiques de température et de pression, d'obtenir de très bons résultats en limitant l'utilisation de solvants souvent polluants, et de s'inscrire ainsi dans une optique de chimie durable (**White et al., 2012**).

4.3 Les huiles végétales

Les huiles végétales sont un autre type d'extraits très fréquemment utilisés dans les produits cosmétiques, dès lors que ces derniers sont constitués d'une phase huileuse. Elles peuvent être incorporées en tant que simple support de formulation, mais souvent, elles constituent des actifs à part entière. En effet, traditionnellement obtenues grâce à la pression mécanique de graines ou de fruits oléagineux, elles sont constituées d'acides gras et sont donc plus ou moins sensibles à l'oxydation en fonction de la nature de ces acides gras . Leur qualité est également directement influencée par le procédé de pression. Ainsi, une huile de qualité vierge est issue d'une pression dite « à froid », réalisée à température ambiante. En revanche, afin d'obtenir un meilleur rendement au niveau industriel, les huiles sont souvent obtenues par pression sous chauffage, ce qui implique un raffinement ultérieur afin de les débarrasser de leurs impuretés et les rendre commercialisables, parfois au détriment de leur qualité (**Gouin, 2004**).

4.4 Intérêt des alternatives issues du monde végétal

Le monde végétal constitue une source inépuisable de ressources naturelles grâce au métabolisme secondaire permettant aux végétaux de synthétiser des métabolites leur assurant la survie et leur permettant une adaptation à leur environnement. Cela se traduit par exemple par la production de pigments conférant une couleur aux pétales afin d'attirer les insectes et oiseaux pollinisateurs, ou de toxines permettant d'éloigner les prédateurs. Cette richesse métabolique connaît des applications dans tous les domaines, de la médecine à la cosmétique en passant par l'industrie textile (**Burt, 2004**).

Pour se défendre contre les agents pathogènes rencontrés dans leur environnement, ou en réponse au stress oxydatif provoqué par la lumière du soleil et l'oxygène de l'air, les végétaux sont capables de produire des composés naturellement antimicrobiens et/ou antioxydants. Les

molécules responsables de ces propriétés agissent souvent de manière synergique et peuvent se retrouver soit dans les huiles essentielles, lorsque la plante en produit (composés volatils), ou dans d'autres parties de plantes, lorsque ce sont des composés non volatils. Parmi les familles de molécules responsables des activités antimicrobienne et antioxydante, on retrouve notamment les polyphénols (flavonoïdes, flavanols, stilbènes), les terpénoïdes (caroténoïdes, stéroïdes) (**Kusumawati et al., 2013**).

Souvent, des mélanges d'extraits de plantes sont incorporés dans les produits cosmétiques afin d'assurer une activité antimicrobienne ou antioxydante suffisante. Certains composés sont également commercialisés sous leur forme pure, par exemple l'acide rosmarinique, le resvératrol, le tocophérol ou l'acide benzoïque, et sont directement ajoutés aux formules. Le choix de l'extrait ou du composé actif incorporé joue un rôle déterminant. Il est en effet essentiel de déterminer et confirmer leur activité en tenant compte de la stabilité des composés actifs et des possibles interactions (synergiques ou antagonistes) entre les différents composés, notamment dans le cas d'extraits, dont la complexité implique que de nombreux composés ne participent pas à l'activité recherchée et peuvent ainsi limiter l'effet initialement recherché (**Kusumawati et al. 2013**).

Il n'existe pas de réglementation concernant l'utilisation d'alternatives naturelles pour assurer la conservation des produits cosmétiques. Ne faisant pas partie de la liste positive des conservateurs autorisés, ces solutions alternatives de conservation ne peuvent pas être revendiquées et étiquetées comme telles. Souvent, ce sont les homologues naturels des conservateurs de synthèse autorisés qui sont utilisés, par exemple l'écorce de saule (*Salix alba*) contenant de l'acide salicylique ou encore les baies du sorbier (*Sorbusaucuparia*) contenant de l'acide sorbique (**Florence, 2017**).

Concernant les agents antioxydants, on trouve également de nombreuses ressources naturelles contenant des agents antioxydants communément utilisés tels que les carotènes (par exemple le β -carotène présent dans la carotte, *Daucus carota*) ou l'acide ascorbique (présent dans le cynorrhodon, fruit de l'églantier, *Rosa rugosa*) ((**Kusumawati et al. 2013**). Quelques exemples de ressources végétales connues pour leurs propriétés antimicrobiennes et antioxydantes ainsi que leurs composés majoritaires ou composés actifs sont présentés dans le **Tableau 1**.

Tableau II : Exemples de ressources naturelles aux propriétés antimicrobiennes et antioxydantes HE : huile essentielle ; E : extrait ; HV : huile végétale (Nychas et al. 2014)

Nom de l'extrait <i>Nom scientifique</i>	Propriétés	Composés majoritaires (HE) Molécules actives (E, HV)	Famille chimique
Origan (HE) <i>Origanum</i> spp.	Antimicrobiennes	Carvacrol, thymol, γ -terpinène, <i>p</i> -cimène, linalol	Terpénoïdes
Thym (HE) <i>Thymus</i> spp.	Antimicrobiennes	Thymol, <i>p</i> -cimène, γ -terpinène, carvacrol, géraniol	Terpénoïdes
Cannelle (HE) <i>Cinnamomum</i> spp.	Antimicrobiennes	Aldéhyde cinnamique	Phénylpropanoïdes
Clou de girofle (HE) <i>Syzygiumaromaticum</i>	Antimicrobiennes	Eugénol	Propénylphénols
Thé vert (E) <i>Camellia sinensis</i>	Antioxydantes	Acide gallique, catéchine, épigallocatechine	Polyphénols
Romarin (HE) <i>Rosmarinusofficinalis</i>	Antioxydantes	1, 8-cinéole, α -pinène, acétate de bornyle, camphre	Terpénoïdes et dérivés Cétones
Romarin (E) <i>Rosmarinusofficinalis</i>	Antioxydantes	Acide rosmarinique	Polyphénols
Curcuma (E) <i>Curcuma longa</i>	Antioxydantes	Curcumine	Polyphénols
Germe de blé (HV) <i>Triticumaestivum</i>	Antioxydantes	Tocophérols Acide linoléique, acide linoléinique	Tocophérols Acides gras insaturés
Tournesol (HV) <i>Helianthusannuus</i>	Antioxydantes	α -tocophérol Acide linoléique	Tocophérols Acides gras insaturés

Il est à noter que des ingrédients actifs utilisés pour leurs propriétés antvieillessement ou antiseptiques peuvent jouer le double rôle d'actif et de conservateur sans pour autant que ce rôle de conservateur soit revendiqué. Au niveau marketing, de tels produits pourront être étiquetés « sans conservateurs », puisque ceux-ci n'apparaîtront pas de manière explicite dans la liste des ingrédients. Pour déterminer l'activité antimicrobienne ou antioxydante d'un produit naturel, de nombreuses méthodes existent et certaines parmi les plus importantes sont présentées ci-dessous. De même, il existe des méthodes pour vérifier l'efficacité d'un système

conservateur dans les formules cosmétiques, ou la stabilité à l'oxydation des huiles entrant dans la composition d'un produit cosmétique (Kerdudo, 2014).

5 Méthodes d'évaluation de l'activité antimicrobienne et antioxydante de produits naturels et de la conservation des produits cosmétiques

5.1 Évaluation de l'activité antimicrobienne

De manière générale, trois méthodes principales sont mises en œuvre pour l'analyse de l'activité antimicrobienne de produits naturels. Les plus connues sont les méthodes de diffusion et de dilution, mais une troisième méthode dite « bioautographique » est également couramment utilisée. Toutes ces méthodes sont relativement faciles à mettre en œuvre sur le plan technique. En revanche, elles sont difficiles à uniformiser en raison de l'influence de plusieurs paramètres, notamment la composition du milieu de culture, le pH du milieu ou encore la méthode d'extraction du matériel végétal. Il est très difficile de contrôler la totalité de ces paramètres, c'est pourquoi il n'existe aucune méthode parfaitement standardisée (Rios et al. 1988).

Les **méthodes de diffusion** sont mises en oeuvre dans un milieu solide : ne nécessitant pas de dispersion homogène dans de l'eau, elles consistent à déposer l'échantillon à étudier sur un disque de papier (méthode de diffusion sur disque), dans un puits d'agar-agar (méthode de diffusion en puits, schéma présenté en **Figure 4**), ou encore dans un cylindre en inox ou porcelaine (méthode de diffusion en cylindre), à le mettre en contact avec un milieu de culture dans lequel a été inoculé une certaine quantité de la souche microbienne dont on souhaite évaluer la sensibilité à l'échantillon testé, et à mesurer le diamètre d'inhibition, par l'échantillon, de cette souche microbienne après incubation. Ainsi, plus l'activité antimicrobienne exercée par l'échantillon en question est importante, plus le diamètre d'inhibition est lui aussi important. Cette technique a été initialement développée pour quantifier les substances antibiotiques dans des extraits bruts, en revanche elle s'avère peu fiable pour les échantillons difficilement solubles dans le milieu de diffusion, d'autant plus qu'il n'existe pas de relation entre le pouvoir de diffusion et l'activité antimicrobienne des échantillons (Das, 2010).

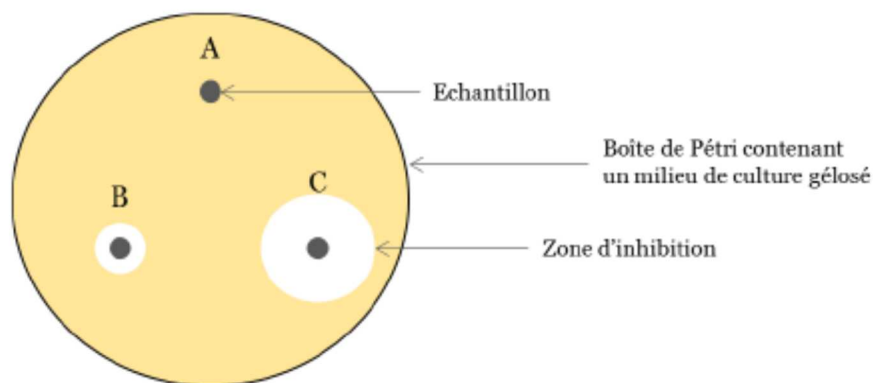


Figure 16 : Schéma d'un test d'activité antimicrobienne par diffusion en puits. Exemple de 3 échantillons à activité nulle (A), modérée (B) ou forte (C). (Athamenaet al 2010)

Dans les **méthodes de dilution**, l'échantillon à analyser est solubilisé ou dispersé de manière homogène dans un solvant adéquat, dans l'objectif de déterminer sa concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis d'une souche microbienne. Une quantité connue de micro-organismes est inoculée dans le milieu et c'est la mesure de la turbidité de la solution par spectrophotométrie après incubation qui sera indicatrice de l'activité antimicrobienne de l'échantillon. Ce principe, beaucoup plus précis et permettant une meilleure comparabilité des échantillons analysés en raison de leur solubilisation homogène, est généralement mis en oeuvre dans le criblage préliminaire d'activité antimicrobienne d'extraits naturels (Flanagan, 2011).

La troisième méthode dite « **bioautographique** » est également couramment utilisée pour l'analyse de l'activité antimicrobienne : elle permet de combiner l'analyse de l'effet antimicrobien avec des techniques de chromatographie sur couche mince, dites planaires (Choma et al 2011). La bioautographie peut être réalisée par contact, immersion ou de manière directe. Cette combinaison entre une analyse chimique et une analyse biologique est une entité de l'approche par EDA (*effect-directed analysis*) ou analyse dirigée par l'effet. Cette approche a vu le jour au courant des années 2000 dans le cadre de la recherche de substances organiques toxiques dans des matrices environnementales, et combine des analyses biologiques, des procédés de fractionnement et des méthodes d'analyses chimiques (Brack, 2003). Le fractionnement peut être réalisé grâce à l'HPTLC, qui permet la séparation de mélanges complexes puis une détection biologique spécifique. Ainsi, l'HPTLC-EDA est utilisée dans des domaines très variés, et trouve par exemple son application en enzymologie dans des tests d'inhibition enzymatique, en immunologie pour la détection de composés spécifiques grâce à l'utilisation d'anticorps couplés à des ligands spécifiques, ou encore en

microbiologie pour la détection spécifique d'une activité antimicrobienne l'HPTLC-EDA (Cebolla et al, 2015).

5.2 Évaluation de l'activité antioxydante de produits naturels

Il existe de très nombreuses techniques pour évaluer l'activité antioxydante de substances ou d'extraits naturels. Etant donné la multitude de mécanismes d'oxydation et leur complexité, ces méthodes sont très difficiles à standardiser et il n'existe pas de test idéal. Afin d'avoir une indication précise du potentiel antioxydant d'un échantillon, une possibilité est de combiner plusieurs méthodes (Fernandez et al 2012).

Les résultats des tests d'activité antimicrobienne ou antioxydante effectués sur des ingrédients cosmétiques tels qu'un extrait naturel peuvent ne pas être transposés à des formulations cosmétiques puisqu'il est essentiel de tenir compte de l'environnement et de la matrice dans lesquels ils se trouveront une fois formulés. (Fernandez et al 2012).

5.3 Évaluation de l'efficacité d'un système de conservation cosmétique

Il est essentiel d'évaluer l'efficacité du système conservateur mis en oeuvre dans les produits formulés. De plus, avant la mise sur le marché de toute formulation cosmétique, la réglementation européenne impose aux fabricants de démontrer l'efficacité du système conservateur incorporé dans le produit. Au niveau antimicrobien, le risque microbiologique doit tout d'abord être apprécié selon la norme NF EN ISO 29621:201753. Les produits identifiés comme étant à faible risque microbiologique suite à l'application de cette norme ne nécessitent pas d'essais microbiologiques. En revanche, les produits identifiés comme présentant un risque microbiologique doivent être évalués selon la norme NF EN ISO 11930:2012, qui décrit précisément la procédure à suivre pour l'évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique (IOS, 2017). Les tests alors réalisés sont appelés « challenge-tests » et permettent de déterminer la durée de vie d'un produit cosmétique. Ces challenge-tests sont également décrits dans la Pharmacopée Européenne (Ph. Eur. 5.1.3. *Efficacy of antimicrobial preservation*, efficacité de la conservation antimicrobienne) et américaine (USP <51> *Antimicrobial Effectiveness Testing*, évaluation de l'efficacité antimicrobienne) et consistent à contaminer artificiellement le produit cosmétique avec des micro-organismes que l'on retrouve habituellement dans les cosmétiques ou au niveau de l'épiderme (notamment *S. aureus*, *A. brasiliensis*, *P. aeruginosa* et *C. albicans*), en nombre connu. Un suivi de l'évolution de la population microbienne est réalisé après 7, 14 et 28 jours

et exprimé en réduction logarithmique, afin de déterminer si les critères d'acceptation du challenge-test sont remplis ou non. Il existe également des méthodes pour vérifier l'efficacité d'un antioxydant dans une formulation cosmétique. Par exemple, un test de vieillissement permet d'évaluer le comportement de formules cosmétiques dans des conditions normales de stockage. En revanche, ce procédé est long et on lui préfère des tests de vieillissement accélérés, plus compatibles avec les contraintes de temps liées au développement d'un produit (**Judde 2004**). En ce sens, la norme NF EN ISO 6886:2016 décrit un essai d'oxydation accéléré, permettant de déterminer la stabilité à l'oxydation des corps gras incorporés dans une formulation cosmétique et d'établir une comparaison entre les antioxydants qui y sont ajoutés (**IOS 2016**).

***Chapitre III : Plantes
potentiellement utilisées
comme conservateur***

Les plantes renferment une large variété de molécules chimiques (peptides, terpènes, polyphénols, alcaloïdes...) de propriétés physico-chimiques très différentes et qui présentent une large variété d'activités biologiques. Il est par ailleurs reconnu que les plantes constituent une source importante de molécules bioactives (**Michel, 2011**). Les industriels développent de plus en plus de procédés mettant en œuvre des extraits et des principes actifs d'origine végétale. Parmi ces nouveaux composés potentiellement intéressants, les antioxydants, tels que les polyphénols, qui ont été particulièrement étudiés en raison de leur utilisation dans les domaines pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires pour leurs effets bénéfiques pour la santé (**Dahmoune et al. 2015**). Notons aussi leurs diverses propriétés biologiques comme les activités anti-allergique, anti-athérogénique, anti-inflammatoire, hépato-protective, antimicrobienne, anti-carcinogénique, anti-thrombotique, cardio-protective et vasodilatatoire citées dans la littérature (**Ksouri et al. 2007**).

Pour être valorisés, les composés bioactifs doivent d'abord être séparés de leur matrice végétale d'origine. Leur diversité rend le choix des processus d'obtention très important (**Michel, 2011**). Pour cela, différents procédés conventionnels et innovants d'extraction sont utilisés. Depuis très longtemps, les plantes jouent un rôle déterminant dans la conservation de la santé des hommes et dans la survie de l'humanité (**Gourguillon et al. 2016**). L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique en particulier saharienne et subsaharienne spontanées qui a des utilisations thérapeutiques très intéressantes. Parmi les plantes les plus répandues on cite le jujubier et le genièvre qui sont des espèces largement exploitées dans la médecine traditionnelle pour sa richesse en composants bioactives comme la vitamine C, polyphénols flavonoïdes, triterpénoïdes et polysaccharides.

I. Généralités sur la plante étudiée : *Ziziphus lotus* L.

I.1. Historique et origine

Découvert en 1767, le nom de *Ziziphus* dérive de l'appellation Berbère «Zizoufou, Zuzaifo». Cette appellation est reliée à l'ancien nom Persique « Zizfum ou Zizafun», alors que les grecs utilisent le mot «Ziziphon». La classification des espèces est basée principalement sur des caractéristiques morphologiques et leur mode d'utilisation. Ce genre regroupe plusieurs espèces environ 170, telles que *Z. spina-christ* (L.), *Z. vulgaris* (Mill.), *Z. lotus* (L.), *Z. mauritiana* (Lam.). Les deux espèces qui produisent des fruits comestibles sont *Ziziphus mauritiana* et *Ziziphus jujuba* et ce dernier est l'espèce la plus populaire. L'arbre de jujube est appelé dans les pays arabes : Sidr, Nabk, Anneb, jujube et en Chine datte chinoise (**Tamaguelt et Amzal, 2016**). Les espèces fruitières de *Ziziphus* se trouvent dans plus de 30 pays, dans les zones arides et semi-arides voire même désertiques de presque tous les continents grâce à leurs capacités de résistance à la sécheresse et à leurs mécanismes physiologiques et morphologiques d'adaptation (**Laamouri et al. 2008**).

I.2. Description botanique

Le *Ziziphus lotus* (jujubier) est un arbuste fruitier, épineux (**Rsaissi et Bouchache, 2002**). Il forme des touffes de quelques mètres de diamètres pouvant atteindre 2m de haut. Ses feuilles sont courtement pétiolées, caduques alternées et ovales à marges entières. Les fleurs sont très visibles de couleurs jaunes avec des sépales ouvertes en étoiles, des petits pétales et un ovaire supérieur bisexuel et fleurissent en juin (**Baba Aissa, 1999; Nour et Dilmi, 2017**). Les fruits sont des drupes à noyaux soudés (**Rsaissi et Bouchache, 2002**). Ses feuilles sont courtement pétiolées, glabres, caduques alternées et ovales à marges entières. Les fleurs sont très visibles de couleurs jaunes avec des sépales ouvertes en étoiles, des petits pétales et sont des drupes à noyaux soudés, l'endocarpe mucilagineux appelé "Nbeg" (**El Hachimi et al. 2017**).

I.3. Caractéristiques

Les espèces de la plante ont plusieurs caractéristiques physiologiques et morphologiques qui peuvent contribuer à leurs capacités à s'adapter aux environnements arides. Ils poussent sur les rives sud de la méditerranée jusqu'en Afghanistan (**Baba Aissa, 1999**). *Ziziphus lotus* (L) est réputée en médecine traditionnelle algérienne vu sa richesse en molécules ayant des activités biologiques variées. Le mot *Ziziphus* vient du grec, mais le mot n'apparaît qu'au

deuxième siècle. Il existe plusieurs espèces de ce genre dont le *Ziziphus lotus* L qui est une plante médicinale. Sa racine est utilisée en décoction pour traiter les maladies de tube digestif et du foie, Le fruit est surtout employé dans les traitements de l'appareil respiratoire. Elle possède d'autres propriétés, tel que : sa valeur tonique, émolliente et sédative. Elle est utilisée aussi comme une haie défensive (**Abdoul Azize, 2016**).

Appellations :

- Nom scientifique : *Ziziphus lotus* (L.)
- Nom vernaculaire : Sedra ou tazouggart, n'beg (le fruit) (**El Hachimi et al. ,2017**).

Nom Français : Jujubier sauvage ou jujubier des Lotophages, jujubier, dindonnier.

I.4.Classification

- Règne : Végétal.
- Embranchement : Spermatophytes.
- Sous embranchement : Angiospermes.
- Sous classe : Dicotylédone.
- Ordre : Celastrales.
- Famille : Rhamnacées.
- Genre : *Ziziphus*.
- Espèce : *Ziziphus lotus* L. (**Quezel et al. 1962**).

I.5. Répartition géographique :

Le genre *Z. lotus* renferme environ 135 à 170 espèces des régions tropicales et subtropicales des deux hémisphères. L'aire de répartition du *Z. lotus* L. s'étale sur tout le Nord d'Afrique et Asie Mineure (**Abdoul Azize et al. 2013**). En Algérie, le *Z. lotus* est répandu dans toute l'Algérie sauf le Tell Algéro-constantinois (**Quezel et al.,1962**).Le genre *Zizyphus* renferme environ 100 espèces principalement existent dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie et des Amériques, tandis que quelques espèces vivent en Afrique et dans les régions tempérés (**Bonnet, 2001**).**En Algérie : *Zizyphus lotus* L.** est très répandu dans les régions arides d'Algérie du Sud, Ain Ouessara et Maessad (wilaya de Djelfa) à climat aride et Taghit wilaya de Bechar au climat Saharien (**Mounni, 2008**).



+

Figure 17 : Plante de zizyphus lotus
(Benammar, 2011)



Figure 18 : Fleur de *Zizyphus lotus* L.
(Web.1)



Figure 19 : Fruits de *Zizyphus lotus* L.
(Web.1)



Figure 20 : Epine de *Zizyphus lotus* L.
(Web.1)

I.6. Compositions biochimiques

Les études photochimiques menées sur le *Z. lotus* montrent la présence de métabolites primaires (sucres 20% à 32%, lipides 0,1% à 0,3%, protéides 0,8% à 2,1%) et secondaires (flavonoïdes, tanins) (Borgi et al., 2007).

Comme toute plante médicinale citée dans le Coran, toutes les parties de la plante renferment des métabolites antioxydants participant à leur vertu pharmacologique et efficacité antioxydante, antibactérienne. Les études photochimiques menées sur le *Zizyphus lotus* montrent la présence des métabolites primaires et secondaires. Parmi les composés majoritaires sont les polyphénols, cyclopeptide, alcaloïdes, saponines, vitamines, minéraux, des acides

aminés, des acides gras polyinsaturés, flavonoïdes, protéines et d'autre (**Tableau IV**). Les fruits contiennent des polyphénols (297-4078.2 mg/100 g MS), flavonoïdes (122 mg/100g MS), des tanins (33 mg/100 g MS) et des carbohydrates (8720 mg/100 g MS). Les noyaux contiennent des taux élevés en huiles (29.73 mg/100 g MS), fibres (16.57 mg/100 g MS), des protéines (14.22 mg/100 g MS), des carbohydrates (4720 mg/100 g MS) et des polyphénols (14.68 mg/100 g MS). Les saponines, les flavonoïdes, les pro-anthocyanidines et les alcaloïdes sont quantifiés dans les racines de Seder (**Catoire et al. 1999**).

Tableau III : Teneur de la pulpe du jujubier frais en métabolites primaires (Catoire et al, 1999)

Fractions de la pulpe du fruit	(g/100g)
Protéines	0,8% à 2,1%
Lipides	0,1% à 0,3%
Sucres	20% à 32%

Tableau IV .Composition biochimique de différents organes végétaux du *Z. lotus* (Abdoul Azize, 2016).

<i>Parties de Z. lotus</i>	Composition	Teneur n mg/100 g
Fruit	Polyphenols totaux Flavénoides Tannins	297–4078.2 122 33
Feuille	polyphenols totaux Flavonoïdes Tannins Saponines Jujuboside B 3 jujubogénine glycosides Jujubasaponine IV Monosaccharides (glucose, galactose, rhamnose, arabinose, and xylose) Flavonol glycoside Rutine 3'5'-Diglucosylphloretine	664 130-199 39 340 3 9.33 2 8720 3 366 3
Graine	Carbohydrates Polyphenols matière grasse Sucres fibres Pectines Protéine	4087 14.68 29730 4100 16570 1350 144220
Branches	Flavonoïdes Saponines Jujuboside A Jujuboside C Lotoside I Lotoside II Lotusine A Lotusine B Lotusine C Lotusine D Polypheno Proanthocyanidines	120 219 6.73 3.96 2.774 1.58 11.56 23.95 23.95 4.2-10 2009 156
Pulpe	Polyphénols Flavonoïdes Tannins graisses sucres fibres Pectines protéines Matière minérale	325 173 922 790 10550 4840 2070 1180 3200

I.7. Activités biologiques et thérapeutiques du *Zizyphus*

Plusieurs parties de *Z. Lotus* ont été utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement des bronchites, diarrhée et abcès (**Bellakhder.,1997**). De plus, la poudre de feuilles et de fruits secs mélangés à de l'eau ou du lait est utilisée pour le traitement des furoncles (**Borgi et al.,2007**), et l'écorce de racine est utilisée pour le traitement du diabète (**Ghedira et al.,1993**).

Le jus des racines de *Z. Lotus* est efficace dans le traitement des leucomes oculaires (**Boukef et al .,1986**). Les fruits et les feuilles sont utilisés comme émollient (**Bellakhder.,1997**) et dans le traitement de la diarrhée et des maladies intestinales (**Boukef et al .,1986**). Les utilisations traditionnelles de *Z. lotus* ont signalées plusieurs avantages de cette plante et de ses composés bioactifs. Cette plante est riche en polyphénols, flavonoïdes, tanins, alcaloïdes, et les saponines qui ont plusieurs propriétés, comme les actions antidiabétiques, hypoglycémiques et gastroprotectrices (**Bakhtaoui et al.,2014 ;Benammer et al.,2014**).Lalotusine B, la lotusine C, le jujuboside A et le jujuboside C sont les principaux constituants actifs d'écorce de racine de *Z. lotus* et pourrait exercer une antibactérienne et antifongique (**Van Beek et al.,1984 ;Pendy et Devi.,1990**).

I.7.1. Effet Antioxydante et anti-inflammatoire

Plusieurs études rapportent que les extraits de *Z. Lotus* ont des propriétés anti inflammatoires et des propriétés antioxydants. Comme le montre le tableau 03, *Z. lotus* II est riche en nombreux composés antioxydants tels que les acides phénoliques, flavonoïdes, alcaloïdes et saponines. Ces composants ont été montrés pour prévenir le stress oxydatif et l'inflammation par réduction des espèces réactives de l'oxygène (**Mothana, 2011**). De façon intéressante, de nombreuses études in vitro ont démontré la capacité des différentes parties de *Z. lotus* pour éliminer les radicaux libres, par exemple, dans la peroxydation lipidique, entraînant la prévention des dommages cellulaires (**Adeli et samavati.,2015 ;Ghazghazi et al.,2014 ;Bakhtaoui et al.,2014;Hammi et al.,2015 ;Ghalem et al.,2014 ;Boulanouar et al.,2013**). De plus, chez les rats diabétiques, l'extrait aqueux des racines de *Z. lotus* laisse fortement augmenter le taux d'hémolyse et de glutathion réductase et diminue l'activité de la catalase, la glutathion peroxydase, le statut d'antioxydant, suggérant que cette plante a corrigé le statut antioxydant induit par le diabète (**Benammer et al.,2014**). Pour cette raison, l'extrait de *Z. lotus* pourrait avoir un potentiel bénéfique pour la protection pilulaire.

In *vitro*, les données sur les cellules T humaines suggèrent que les fruits de *Z. lotus* ont des activités anti oxydantes plus élevées par rapport aux autres parties de cette plante, suivies des feuilles, racine et tige (**Benammar et al.2010**). De plus, les métabolites secondaires de *Z. lotus* administrés par voie orale chez le rat présentait des effets anti-inflammatoires de manière dose-dépendante (**Borgi et al.2007**) en inhibant l'oedème de la patte et la production de nitrite sans cytotoxicité (**Borgi et al.2008**). Ces études montrent que les biomolécules de *Z. lotus* pourraient avoir des effets bénéfiques sur la santé humaine.

I.7.2. Effet Antimicrobienne et antifongique

Dans les études microbiologiques, les effets des extraits de *Z. lotus* ont été évalués sur la croissance de plusieurs bactéries et champignons. Ils ont démontré que les extraits des fruits de *Z. lotus* représente des effets bactéricides (**Ghazghazi et al.,2014 ;Rsaissiet al.,2013**) .

Ces activités antimicrobiennes des fruits de *Z. lotus* semblent être induites par des composés phénoliques contenus en partie de *Z. lotus*, ces résultatsmontrent que *Z. Lotus* pourrait être considéré comme une source de biomolécules naturelles pour la production de bactéricides synthétiques et fongicides (**Aziz et al.1998**).

I.7.3. Effet Antidiabétique et hypoglycémique

Des études récentes menées sur des rats hyperglycémiques induite par la streptozotocine montrent que les extraits de racines et des feuilles de *Z. lotus* présentaientune activité hypoglycémique très efficaces

I.7.4. Effet Antiulcérogène et gastroprotecteur

Dans de nombreuses études in vivo, l'effet protecteur des extraits aqueux de *Z. lotus* (écorce de racine, des feuilles et des fruits) administrés par voie orale contre les lésions ulcérogène sont été observés chez le rat Wistar (**Bakhtaoui et al.,2014;Wahida et al.,2007**) .Ces rapports suggèrent que les extraits de cette plante agissent comme agent antiulcéreux en réduisant l'acidité gastrique.

Helicobacter pylori est la bactérie la plus commune qui peut survivre dans l'environnement très acide de l'estomac humain impliquant différentes maladies digestives comme ulcère gastro-duodéal, dyspepsie (brûlures d'estomac, indigestion acide et nausées) (**Shadman et al.,2015 ;Costa et al.,2016**) , le cancer de l'estomac (adénocarcinome) (**Zhang et al.,2015 ;Fassan et al.,2016**) , et le lymphome MALT (Yuge et al.,2016). L'effet d'extrait de

méthanol de *Z. le lotus* (fruits) a été étudié in vitro sur 22 souches cliniques d'*Helicobacter pylori*, les résultats ont montrés que cette plante a des effets bactéricides sur ces souches cliniques (**Bakhtaoui et al.,2014**) .

I.7.5. Effet Analgésique et antispasmodique

Chez la souris, les effets analgésiques des extraits aqueux des écorces de racines et des feuilles de *Z. lotus* ont été observées de manière dose-dépendante (**Borgi et al.,2007**) des activités analgésiques ont également été signalées par des flavonoïdes et de saponine isolés des extraits de feuilles et écorces de racines de *Z. lotus* (**Borgi et al.,2007**)

I.7.6. Activité de cicatrisation des plaies

Récemment, **Ansari et al. (2006)**, dans leur livre intitulé « les médicaments à base de plantes », ont affirmé que la racine de *Z. jujuba* permet la cicatrisation des plaies. Les données expérimentales sur l'activité de cicatrisation de la racine de *Z. jujuba* chez les animaux de laboratoire ne sont pas disponibles dans la littérature (**Preeti et Tripathi, 2014**). Aussi, **Chopda et Mahajan (2009)**.

II. *Juniperus oxycedrus* L.

II.1. Présentation de *Juniperus oxycedrus* L.

Le Genièvre ou Génévrier oxycède (*Juniperus oxycedrus* L.) est un arbrisseau conifère. Les Conifères forment un grand groupe d'arbres et d'arbustes à inflorescence en cônes qui compte environ 48 genres et plus de 500 espèces. Ce groupe fait partie du sous embranchement des Gymnospermes (arbres sans fleurs et à graines nues) et inclut les plus vieux (pin aristé, plus de 4000 ans) et les plus grands (séquoia, plus de 100 m de hauteur) êtres vivants qui soient. Leur habitat se situe majoritairement dans les régions froides et tempérées. Il existe une multitude d'espèces (surtout dans les pinacées) dont voici les plus courantes: Sapins, Pins, Cèdres, Epicéas, Cyprès, Thuyas et Génévriers. (Djerromi, 2004). Le genre *Juniperus* ou génévrier comprend 60 espèces d'arbres ou arbustes à feuillage persistant et aromatique répartis dans tout l'hémisphère Nord en Europe, Asie et Amérique du Nord, de la bordure méridionale de l'Arctique jusqu'à l'Atlas, au Caucase et à l'Himalaya.(Adams, 2004). *Juniperus* serait une altération latine de termes celtes signifiant " *buisson âpre*" car ses petites baies sont amères. Le génévrier cade (*Juniperus oxycedrus* L.), ou encore oxycède, est un petit arbre ou un arbrisseau fréquent en région côtière méditerranéenne (du Maroc à l'Iran), où il est l'une des plantes caractéristiques des garrigues et des maquis. Les cônes, comestibles frais, sont bruns à orange. On distingue couramment deux sous-espèces (Lebreton et al. 1991) : subsp. *Oxycedrus*, à port érigé, à feuilles très étroites, à fruits petits ; et subsp. *macrocarpa*, plus buissonnant et à gros fruits. À noter cependant que, dans une monographie récente consacrée au genre *Juniperus*. Adams (2001) propose de faire de *macrocarpa* une espèce à part entière (*J. macrocarpa*) et de diviser la sous-espèce *oxycedrus* en deux : *J. oxycedrus* dans l'ouest du bassin méditerranéen et *J. deltoides* dans l'est du bassin.

II.2. Description botanique

Arbre pouvant atteindre 14 mètres, mais dont les dimensions sont en général beaucoup plus modestes (1 à 2 mètres, parfois moins). Écorce grise ou rougeâtre, plutôt rugueuse. Feuillage persistant se présentant sous forme d'aiguilles. Ces aiguilles, à pointe fine et piquante, sont disposées en verticilles de 3 sur 6 rangs. Leur face supérieure porte deux bandes blanches, ce qui permet de faire la distinction avec le génévrier commun (aiguilles à une seule bande blanche). (Maire, 1953 ; Barrero et al. 1993).

Le genévrier cade est un arbrisseau dioïque, dont les fleurs mâles et femelles ne poussent pas sur la même plante. Les fleurs mâles et femelles forment des petits cônes. Les fruits de genévrier cade sont des cônes bacciformes arrondis ou piriformes, de 6 à 15mm de diamètre (taille d'un petit pois). Les cônes femelles prennent peu à peu l'apparence de baies, les écailles se soudant les unes aux autres. Ces cônes arrivent à maturité au bout de deux ans environ, contenant 2 à 3 graines. Cela forme des baies brillantes, brun rougeâtre ou pourprés (**Quezel et Santa, 1962 ; Guerra et al. 1987**)

Le bois de printemps ou bois initial est constitué de trachéides de grand diamètre. Celui d'été ou bois final est plus sombre et est constitué de trachéides au diamètre plus petit et aux parois plus épaisses. Le bois de certains Conifères contient des canaux résinifères. Les feuilles sont adaptées pour prévenir les pertes d'eau : la surface cireuse (cuticule) est épaisse et les pores (stomates) sont profonds. Généralement, chaque feuille présente une grande nervure (faisceau vasculaire) et plusieurs canaux résinifères. La plupart des feuilles de Conifères sont disposées en spirale, mais l'arrangement et la forme des feuilles peuvent varier au cours de la croissance de l'arbre (**Ghestem, 2001 ; Djerromi, 2004**)

Le nom « *oxycedrus* » provient de deux mots grec « oxys » et « cedros » qui signifient respectivement aigu et cèdre, c'est-à-dire « cèdre à feuille épineuse » (**Garnier et al. 1961**). C'est un arbrisseau ou arbuste dressé de 1 à 8 mètres, à bourgeons écailleux et à Ranules obtusément triangulaire, feuilles très étalées, verticillées, toutes linéaires en alène à Pointe fine et piquantes articulées, non décurrentes, marquées de deux sillons blanchâtres Séparées par nervure médiane en dessus et à carène obtuse et non sillonnées en dessous fleurs dioïques, fruits rouge et luisants à la maturité, assez gros (**Chaouche, 2013**). Il pousse dans les forêts des régions côtières méditerranéennes (du Maroc à l'Iran) et préfère les endroits pierreux. Cet arbre atteint couramment 4 à 15 m de haut dans la nature, et même 25 à 30 m pour certaines espèces Il supporte les sols pauvres, éventuellement calcaires, sablonneux et secs, jusqu'à 4500 m d'altitude. Certaines espèces de genévrier peuvent vivre plus de 1000 ans. La plupart conservent des feuilles juvéniles (aciculaires, pointues, souvent groupées par 3 et disposées sur plusieurs plans ; leur base étroite ne masque pas les rameaux bruns). Le feuillage juvénile en aiguille se transforme parfois avec l'âge en écailles. Le bois odoriférant comme celui du cèdre. Ce sont les seuls membres de la famille à porter des baies résultant de la fusion des écailles charnues du cône ; cônes mâles petits, solitaires ou en groupe, cônes femelles et mâles sur la même plante ou pas, sphériques avec de 3 à 8 écailles devenant ligneuses à maturité en

1 à 3 ans. (Adams, 2004). Plusieurs espèces ont des propriétés curatives, antiseptiques et diurétiques entre autres.

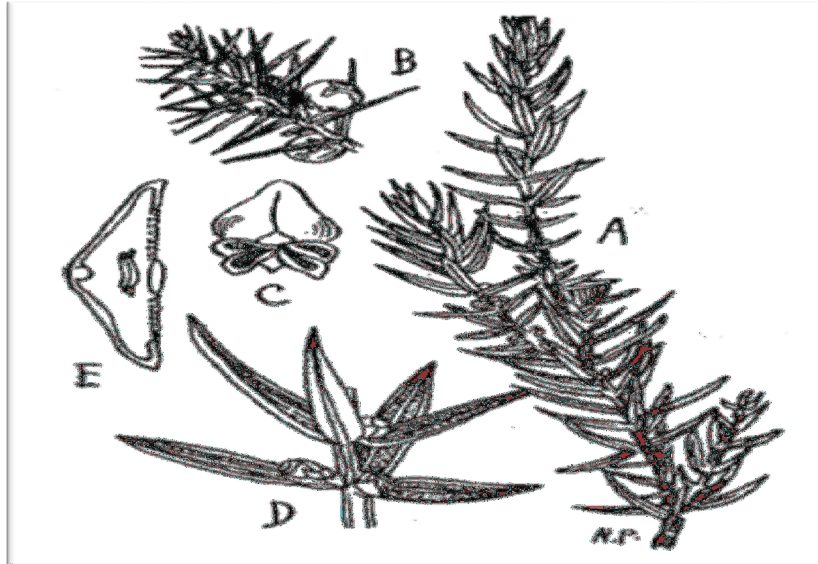


Figure 21: A, Rameau avec fleurs ; B, Ramule fructifère; C, Microsporophylle ; D, Feuilles, face inférieure; E, Coupe de la feuille. (Maire, 1953)



Figure 22 : Morphologie de *Juniperus oxycedrus* L. (web.1)

II.3. Classification botanique de *Juniperus oxycedrus*

- Règne: plantes
- Embranchement : spermapytes
- Sous embranchement : gymnospermes
- Classe : conifères
- Ordre: coniférales
- Famille : cupressacées
- Genre : *Juniperus*
- Espèce : *Juniperus oxycedrus*

- En arabe : taga, Aar' Ar

-En français : cadier, cade genévrier oxycède, petite cèdre (Klimko et al. 2007).

II.4. Composition chimique de *Juniperus oxycedrus*

Les constituants de la plante sont des flavonoïdes, des terpénoïdes, des monoterpénoïdes, des sesquiterpénoïdes, huile volatile, tanin de résine et extractifs (acide acétique, acide pyroligneux, acétone, alcool méthylique, etc). L'huile de cade contient des phénols : 17 à 26 % phénols (principalement guaïcol environ 12 %), cadinène (sesquiterpénoïde), des carbures et de l'alcool (cardinol). Le composant principal de l'huile (goudron végétal) de *Juniperus oxycedrus* est le cadinène, un sesquiterpène, mais le crésol et le gaïacol sont également trouvés (Molino, 2005).

Les feuilles contiennent des terpénoïdes, Monoterpenoids et acide gras sabinique. Les huiles de feuille se sont principalement composées d'alpha-pinène (40-57%) et d'oxyde de manoyl (5-10%). Les fruits contiennent : terpénoïdes, sesquiterpénoïdes et diterpénoïdes. Huiles de baie (non mûr) étaient dominés par alpha-pinène (65%) avec des quantités modérées de myrcène, limonène, germacrène D ou gamma-murulène, il avait été rapporté qu'ils contiennent également le canfène, le junène, le terpinole et le cadinène (Molino, 2005).

II.5. Activités biologiques de la plante

II.5.1. Effet antimicrobien et antifongique

L'huile de *J. oxycedrus* est avéré être actif contre différentes souches bactériennes gram positives comme sur les bactéries gram négatives. En effet, *Haemophilus influenzae* présente une sensibilité élevée à cette huile avec une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 125 µg/ml. En plus de l'activité antibactérienne, des études (réalisées *in vitro* et *in vivo*) ont prouvé que l'huile essentielle possède des propriétés antifongiques contre une certaine souche dermatophytes. Le delta-3-Carène s'est révélé être un composé fondamental pour cette activité (Cavaleiro et al., 2006). De même, l'extrait méthanolique de *Juniperus oxycedrus* a montré une activité inhibitrice à une concentration de 31,25 à 250 µg / ml. 5 mg/ml contre 11 isolats de *Candida albicans* (Karaman et al., 2003).

De nombreux auteurs relèvent une activité antibactérienne et antifongique de *J. oxycedrus* vis-à-vis des micro-organismes. Digrak et al. (1999), ont testé le pouvoir antimicrobien de l'extrait des feuilles, des fruits, de la résine et de l'écorce de *J. oxycedrus*. Ils ont constaté que ces extraits inhibent la croissance de plusieurs bactéries, mais ils ne montrent pas des effets antifongiques. D'après Karaman et al. (2003) qui ont étudié le pouvoir antimicrobien des

extraits aqueux et méthanolique des feuilles de *J. oxycedrus*, l'extrait aqueux de cette dernière n'a pas un effet antimicrobien contre les microorganismes testés, tandis que l'extrait méthanolique a des effets inhibiteurs sur la croissance de 11 souches de *Candida albicans* et 57 souches de 24 espèces bactériennes de genres suivants: *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, *Brucella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* et *Xanthomonas*.

II.5.2. Effet antioxydant

La capacité antioxydante d'extrait alcoolique de *Juniperus oxycedrus* a été étudiée par différentes méthodes in vitro, les résultats obtenus montrent la grande activité antioxydante de cet extrait (Taviano et al., 2013). L'extrait éthanolique est montré une activité importante de piégeage du radical DPPH[•] avec une IC₅₀ d'ordre de 481,3 µg / ml (Benayache et al., 1992).

De même, L'extrait aqueux de *Juniperus oxycedrus* a montré une activité antioxydante élevée mesurée par les techniques : DPPH, TEAC et FRAP avec des valeurs de CI₅₀ de 17,91 ± 0,37 µg / ml, 19,80 ± 0,55 µg / ml et 24,23 ± 0,07 µg / ml, respectivement. La forte corrélation observée entre les capacités antioxydantes et leur teneur phénolique totale a indiqué que les composés phénoliques étaient un contributeur majeur aux propriétés antioxydantes de ces extraits (El Jemli et al. 2016).

II.5.3. Effets analgésiques et anti-inflammatoires

Des extraits de méthanol et de dichlorométhanol de feuilles et de tiges de *Juniperus oxycedrus* ont été testés pour leurs effets analgésiques et anti-inflammatoires. L'extrait méthanol a montré un effet analgésique dans les modèles de stimulation chimique, mécanique et thermique alors que l'extrait de dichlorométhanol n'a montré qu'un effet significatif dans les modèles de douleur induite par stimulation chimique. Les deux extraits ont montré une activité anti-inflammatoire significative et une inhibition de l'œdème de la patte de rat induit par la carraghénane (Moreno et al. 1998).

II.6. Propriétés thérapeutiques

Huile de cade est la fraction la plus légère obtenue après pyrogénéation du bois et feuilles de *Juniperus oxycedrus* L., Cupressaceae de la région méditerranéenne. Produit très coloré et d'odeur empyreumatique, l'huile de cade contient des sesquiterpènes ; δ-cadinène, cadalène, calacorène, etc, et des phénols (guaiacol, crésol), utilisée autrefois pour ses vertus

cicatrisantes, réputée parasiticide, désinfectant et antiseptique, elle est très efficace dans l'éloignement des rongeurs, ainsi que comme répulsif d'insectes, elle a été employée en pommades pour le traitement d'affections de la peau (keratoses, eczemas, nevrodermites...)(Loizzo et al., 2007), pour les psoriasis et les dermites séborrhéiques (en traitement local d'appoint). Elle sert aussi à soigner le cuir chevelu (anti-pelliculaire et anti-poux), donne éclat et brillance aux cheveux et des ongles (fortifie). Frédéric Mistral y fait allusion dans le *Trésor du Félibrige* en parlant d'une huile âpre dont les bergers se servent contre la gale".(Bruneton, 1999). Elle demeure utilisée en médecine vétérinaire et dans divers produits d'hygiène (shampooings, dermites séborrhéiques du cuir chevelu). Les applications doivent être de courte durée (risque cancérigène). On l'utilisait autrefois dans le Gers pour éviter que les canards ne s'attaquent entre eux en mettant quelques gouttes sur leur croupion. (Lebreton et al., 1991). Le genévrier est utilisé comme plante médicinale depuis l'Antiquité, par les Grecs et les Arabes. Le genévrier était une plante appréciée des Grecs anciens et des Romains (Quézelet et al., 1962).

Cette plante est considérée comme un bon remède traditionnel pour le traitement de diverses maladies, inflammatoires et infectieuses telles que la bronchite, le rhume, la toux, les infections fongiques, les hémorroïdes, maladies gynécologiques, et des plaies (Akkol et al., 2009).

Boukef et al., (1982) rapporte que le décocté préparé à partir des baies de *J.oxycedrus*, est utilisé pour traiter les abcès et les ulcérations de la peau et précise que ce même décocté, en association avec la coriandre, combat le diabète. Les feuilles sont utilisées sous forme de décoction contre le diabète, la diarrhée et le rhumatisme, alors que les fruits séchés et réduits en poudre peuvent guérir les ulcérations de la peau et les abcès (Mansouri et al. 2011). L'extrait de fruit bouilli a été largement utilisé dans le traitement des troubles gastro-intestinaux, les rhumes communs, et diurétique (Akkol et al. 2009).

Les plantes appartenant au genre *Juniperus* contiennent divers composés tels que les composés phénoliques : flavonoïdes et tanins (Taviano et al. 2013) (Chaouche et al., 2013) et les terpénoïdes (huiles essentielles, sesquiterpénoïdes, diterpénoïdes, lignanes et d'autres stéroïdes) (Loizzo et al., 2007).

II.7. Utilisations de l'huile de cade

II.7.1. Utilisation en médecine humaine traditionnelle

L'extrait du bois de *J.oxycedrus*, « huile de cade » est connu dans tout le Maghreb comme une sorte de tannage au fond des jarres à eau, les cruches et à l'intérieur des guerba (poutres de peau) (Acovitsioti-Hameau et al., 1993). Cette huile est utilisée depuis très longtemps, comme :

Remède externe de nombreuses affections cutanées et dans les soins capillaires elle est utilisée en application locale dans un certain nombre d'affection de la peau: eczéma chronique à forme sèche, acné et psoriasis (Boullard, 2001).

Pour l'usage interne, l'huile de Cade peut être préconisée comme vermifuge, on administre quelques gouttes et contre la lithiase biliaire, la néphrite chronique, et la pyélitén. Elle est conseillée aussi pour traiter les angines et combattre l'asthénie, est aussi réputée pour ses vertus prophylactiques (Bellakhdar, 1997).

Ainsi, en milieu rural pour parer à diverses épidémies, il est conseillé pour la population d'appliquer une goutte de goudron d'oxycèdre sur le nez ; est utilisée contre la diarrhée, le diabète, l'hypertension artérielle, la bronchite, et la pneumonie (Bellakhdar, 1997).

II.7.2. Utilisation en médecine vétérinaire

Les propriétés de l'huile de cade permettent des traitements préventifs mais aussi curatifs contre des gales, les teignes, des dartres, les blessures de sabots sur les bovidés, caprins, équidés et ovidés. Elle servait aussi, par badigeonnage ou frictions des parties postérieures des quadrupèdes, de répulsif contre les insectes de type taons ; mouches ou moustiques, ainsi que pour de nombreux reptiles comme les serpents ou les scorpions (Esclamanti, 2008). L'huile de cade possède de nombreuses activités biologiques contre une large gamme de bactéries, de champignons et espèce de levure (Karaman et al., 2003). En phytothérapie, elles sont utilisées pour leurs propriétés antiseptiques contre les maladies infectieuses d'origine bactérienne (Cavaleiro et al., 2006).

II.7.3. Utilisation en Pharmacologie

L'huile de cade possède différentes actions pharmacologiques. Elle est antiprurigineuse, antiseptique et antifongique. Elle cicatrise les plaies, coagulent le sang, atténuent les ulcères (Opdyke, 2013). Elle entre également dans la préparation d'un certain nombre de produits cosmétiques (savon, crème, shampoing...), pour son action antipelliculaire, assainissant et desquamant, également contre l'excès de sébum (séborrhée) et les démangeaisons du cuir

chevelu. Elle redonne brillance et tonus aux chevelures ternes (**Harborne et Baxter, 2001**).**Boukef et al. (1982)** rapporte que le décocté préparé à partir des baies de Juniperus est utilisé pour traiter les abcès et les ulcérations de la peau et précise que ce même décocté, en association avec la coriandre, combat le diabète.

II.7.4. Toxicité de l'huile de cade

La sécurité de l'huile de cade est discutée sur la base de l'expérience de la pharmacovigilance. Les données sur les effets indésirables de l'huile de cade suggère qu'il pourrait avoir des effets potentiellement mortels qui peuvent se produire une exposition topique suivante, ingestion ou par inhalation des concentrations très élevées de cette dernière (**Achour et al. 2005**).

Conclusion

Les agents conservateurs, par leur action sur les microorganismes, permettent de garantir la sécurité d'emploi des produits cosmétiques. Cependant, leur activité inhibitrice sur les cellules vivantes leur confère, par nature, des propriétés toxicologiques souvent peu favorables. Ils sont susceptibles de provoquer, entre autres, des pathologies cutanées telles qu'irritations et hypersensibilités. Il existe heureusement des alternatives, comme la conservation physique ou l'autoprotection des formules. Mais celles-ci ne sont hélas pas applicables à tous les produits. Le recours à l'utilisation de conservateurs listés se révèle donc bien souvent indispensable.

Les extraits naturels, bien moins étudiés, constituent une solution d'intérêt. Un certain nombre d'extraits sont déjà commercialisés et utilisés en tant que conservateurs, bien que non présents sur la liste positive. Cela représente donc une piste à exploiter afin d'approfondir l'étude de leur potentiel antimicrobien et envisage leur valorisation de manière plus importante.

L'avancement de la recherche permet d'envisager des alternatives de plus en plus nombreuses, respectueuses de l'environnement et en adéquation avec la demande du marché.

Au cours de ce travail bibliographique, nous avons dans un premier temps abordé les produits cosmétiques, la composition d'un produit cosmétique, et les aspects réglementaires qui les concernent. Dans un deuxième temps, nous avons penché sur la conservation des produits cosmétiques, leurs controverses et les alternatives naturelles aux conservateurs synthétiques. Dans le troisième chapitre, nous avons étudié les caractéristiques des plantes proposées *Ziziphus lotus* et *Juniperus xycedrus*.

Le travail bibliographique effectué permet de conclure que les deux plantes ont des effets antimicrobienne et antioxydant peuvent être utilisés comme conservateurs naturels dans les cosmétiques.

Références bibliographiques

Abdoul-Azize, S. (2016). Potential benefits of jujube (*Zizyphus Lotus L.*) bioactive compounds for nutrition and health. *Journal of nutrition and metabolism*, 2016..

Abdoul-Azize, S., Bendahmane, M., Hichami, A., Dramane, G., Simonin, A. M., Benammar, C., ... & Khan, N. A. (2013). Effects of *Zizyphus lotus L.*(Desf.) polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. *International immunopharmacology*, 15(2), 364-371.

Achour, H., Boccacandro, F., Felli, P., Amirian, J., Uthman, M., Buja, M., & Smalling, R. W. (2005). Mechanical left ventricular unloading prior to reperfusion reduces infarct size in a canine infarction model. *Catheterization and cardiovascular interventions*, 64(2), 182-192.

Acovitsioti-Hameau, A., Hameau, P., & Rosso, T. (1993). Fours à cade, fours à poix: de l'étude architecturale à la distillation expérimentale. *Techniques & culture (Paris)*, (22), 105-143.

Adams, R. P. (2001). Geographic variation in leaf essential oils and RAPDs of *Juniperus polycarpus* K. Koch in central Asia. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(6), 609-619.

Adams, R. P. (2004). Junipers of The World: The Genus *Juniperus*. Trafford. *Victoria*, 4120-250.

Adeli, M., & Samavati, V. (2015). Studies on the steady shear flow behavior and chemical properties of water-soluble polysaccharide from *Zizyphus lotus* fruit.

Akkol, E. K., Güvenç, A., & Yesilada, E. (2009). A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa. *Journal of ethnopharmacology*, 125(2), 330-336.

Al-Saeedi, A. H., Al-Ghafri, M. T. H., & Hossain, M. A. (2016). Comparative evaluation of total phenols, flavonoids content and antioxidant potential of leaf and fruit extracts of Omani *Zizyphus jujuba L.* *Pacific Science Review A: Natural Science and Engineering*, 18(1), 78-83.

Annexe, I. (2009). Règlement (CE) n 761/2009 du 23/07/09 modifiant, aux fins de son adaptation au progrès technique, le règlement (CE) n 440/2008 établissant des méthodes d'essai conformément au règlement (CE) n 1907/2006 du Parlement européen et du Conseil concernant l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation des substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances (REACH).

ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé). (2012). Evaluation du risque lié à l'utilisation du phénoxyéthanol dans les produits cosmétiques [in French].

Athamena, S., Chalghem, I., Kassah-Laouar, A., Laroui, S., & Khebri, S. (2010). Activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Cuminum cyminum L.* *Lebanese science journal*, 11(1), 69-81.

Aziz, N. H., Farag, S. E., Mousa, L. A., & Abo-Zaid, M. A. (1998). Comparative antibacterial and antifungal effects of some phenolic compounds. *Microbios*, 93(374), 43-54.

Baba Aissa, F. (1999). Encyclopédie des plantes utiles, Flore d'Algérie et du Maghreb. *Librairie moderne, Algérie*.

Bakhtaoui, F. Z., Lakmichi, H., Megraud, F., Chait, A., & Gadhi, C. E. A. (2014). Gastro-protective, anti-*Helicobacter pylori* and, antioxidant properties of Moroccan *Zizyphus lotus L.* *Journal of applied pharmaceutical science*, 4(10), 81-87.

Barrero, A. F., Oltra, J. E., Herrador, M. M., Cabrera, E., Sanchez, J. F., Quílez, J. F., ... & Reyes, J. F. (1993). Gibberones: α -pyrones from *Gibberella fujikuroi*. *Tetrahedron*, 49(1), 141-150.

Bayer E., Buttler K.P., Finkenzeller X., Grau J., 2001:

Bellakhdar, J., La Pharmacopée Marocaine Traditionnelle, IbisPress, Paris, France, 1997

Bellakhdar, J. (1997). La pharmacopée traditionnelle marocaine. *Le Fennec & Ibis press (Eds.), France*, 764.

BENAMMAR, C. E. (2011). Thèse: Effets antioxydants et immunomodulateurs d'une plante médicinale nord-Africaine, *Zizyphus lotus L.(sedra)*: étude des différents extraits [En ligne]. *Université Abou Bekr Belkaid–Tlemcen*, 30(05).

Benammar, C., ...& Khan, N. A. (2013). Effects of *Zizyphus lotus L.(Desf.)* polyphenols on Jurkat cell signaling and proliferation. *International immunopharmacology*, 15(2), 364-371.

Benammar, C., Baghdad, C., Belarbi, M., Subramaniam, S., Hichami, A., & Khan, A. (2014). Antidiabetic and antioxidant activities of *Zizyphus lotus L* aqueous extracts in Wistar rats. *Nutrition & Food Sciences*

Benammar, C., Hichami, A., Yessoufou, A., Simonin, A. M., Belarbi, M., Allali, H., & Khan, N. A. (2010). *Zizyphus lotus L.(Desf.)* modulates antioxidant activity and human T-cell proliferation. *BMC complementary and alternative medicine*, 10(1), 54.

Benayache, F., Benayache, S., Medjroubi, K., Massiot, G., & Aclinou, P. (1992). Drozd. B. and Nowak, G. *Phytochemistry*, 31, 4360.

Bergsson, G., Arnfinnsson, J., Steingrímsson, O., & Thormar, H. (2001). In vitro killing of *Candida albicans* by fatty acids and monoglycerides. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 45(11), 3209-3212.

Bonnet J., 2001 : Larousse des arbres et des arbustes. Ed. Paris. P : 512.

Borgi, W., Ghedira, K., & Chouchane, N. (2007). Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*, 78(1), 16-19.

Borgi, W., Ghedira, K., & Chouchane, N. (2007). Antiinflammatory and analgesic activities of *Zizyphus lotus* root barks. *Fitoterapia*, 78(1), 16-19.

Boukef, K. Les Plantes Dans la Médecine Traditionnelle Tunisienne: Médecine Traditionnelle et Pharmacopée. Agence de Coopération Culturelle et Technique, Paris, France, 1986.

Boukef, K., Souissi, H. R., & Balansar, G. (1982). [Contribution to the study of plants used in traditional Tunisian medicine]. [French]. *Plantes Médicinales et Phytothérapie*.

Boulanouar, B., Abdelaziz, G., Aazza, S., Gago, C., & Miguel, M. G. (2013). Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. *Industrial Crops and Products*, 46, 85-96.

Boullard, B., 2001. Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. ESTEM.

Brack, W. (2003). Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures?. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 377(3), 397-407.

Brack, W. (2003). Effect-directed analysis: a promising tool for the identification of organic toxicants in complex mixtures?. *Analytical and bioanalytical chemistry*, 377(3), 397-407.

Brannan, D. K. (1995). Cosmetic preservation. *Journal of the society of cosmetic chemists*, 46(4), 199-220.

- Brannan, D. K. (1995). Cosmetic preservation. *Journal of the society of cosmetic chemists*, 46(4), 199-220.
- Brannan, D. K. (2006). Validation of methods. In *Cosmetic Microbiology* (pp. 147-160). CRC Press.
- Brunetton J., 1999: Pharmacognosie – phytochimie - plantes médicinales, technique et documentation. Lavoisier 3eme Ed. Paris. pp : 370-386.
- Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International journal of food microbiology*, 94(3), 223-253.
- Castelain, F., & Castelain, M. (2012). Parabens: a real hazard or a scare story?. *European Journal of Dermatology*, 22(6), 723-727.
- Catoire C., Zwang H., Bouet C. (1999) Les jujubiers ou le *Zizyphus*, fruits oubliés n°1
- Cavaleiro, C., Pinto, E., Gonçalves, M. J., & Salgueiro, L. (2006). Antifungal activity of Juniperus essential oils against dermatophyte, Aspergillus and Candida strains. *Journal of applied microbiology*, 100(6), 1333-1338.
- Cebolla, V. L., Membrado, L., Jarne, C., & Garriga, R. (2015). High-Performance Thin-Layer Chromatography. *Analytical Separation Science*, 1093-1142.
- Chaouche, T. M., Haddouchi, F., Ksouri, R., Medini, F., & Atik-Bekara, F. (2013). In vitro evaluation of antioxidant activity of the hydro-methanolic extracts of Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus. *Phytothérapie*, 11(4), 244-249.
- Choma, I. M., & Grzelak, E. M. (2011). Bioautography detection in thin-layer chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1218(19), 2684-2691.
- Chopda, M. Z., & Mahajan, R. T. (2009). Wound healing plants of Jalgaon district of Maharashtra state, India. *Ethnobotanical leaflets*, 2009(1), 1.
- Chowdary, N. B., & Padashetty, N. S. (2000). In vitro screening of antibacterial activity of leaves of Ber. *Current Research-University of Agricultural Sciences (Bangalore)*, 29(5/6), 78-79.
- Cillard, J., & Cillard, P. (2006). Mécanismes de la peroxydation lipidique et des anti-oxydations. *Oleagineux, corps gras, lipides*, 13(1), 24-29.
- Cohen, Y., & Gleitz, C. (2009). Les conservateurs dans les produits cosmétiques: cas des parabens et du phénoxyéthanol. Et que penser des produits cosmétiques " biologiques"?.
- Comité Scientifique pour la Sécurité des Consommateurs. *Opinion on Methylisothiazolinone (MI) (P94) Submission III (Sensitisation only)*, <http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_178.pdf> (2015) , page consultée le 22 mai 2016.
- Conseil, P. E. (2009). Règlement (CE) No 1223/2009 du PARLEMENT Européen et du Conseil du 30 Novembre 2009 Relatif Aux Produits Cosmétiques.
- Cosmébio. *Les dernières données du marché - Octobre 2015*, <<http://www.cosmebio.org/uploads/fichier/document/0/0/2/les-dernires-donnes-du-march-octobre-2015.pdf>> (2015).
- COSMOS-standard. *The COSMOS-standard*, <<https://cosmos-standard.org/>> (2016), page consultée le 28 septembre 2016. COSMOS-standard. *COSMOS-standard databases*, <<http://cosmos-standard-rm.org/data/index.php>> (2016), page consultée le 28 septembre 2016.

- Costa, A. M., Ferreira, R. M., Pinto-Ribeiro, I., Sougleri, I. S., Oliveira, M. J., Carreto, L., & Figueiredo, C. (2016). Helicobacter pylori activates matrix metalloproteinase 10 in gastric epithelial cells via EGFR and ERK-mediated pathways. *The Journal Of Infectious Diseases*, 213(11), 1767-1776.
- Dahmoune, F., Nayak, B., Moussi, K., Remini, H., & Madani, K. (2015). Optimization of microwave-assisted extraction of polyphenols from Myrtus communis L. leaves. *Food chemistry*, 166, 585-595.
- Darbre, P. D., Aljarrah, A., Miller, W. R., Coldham, N. G., Sauer, M. J., & Pope, G. S. (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 24(1), 5-13..
- Das, K., Tiwari, R. K. S., & Shrivastava, D. K. (2010). Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agents: current methods and future trends. *Journal of medicinal plants research*, 4(2), 104-111.
- Deladino, L., Anbinder, P. S., Navarro, A. S., & Martino, M. N. (2008). Encapsulation of natural antioxidants extracted from Ilex paraguariensis. *Carbohydrate polymers*, 71(1), 126-134.
- Desf.(Rhamnaceae): jujubier sauvage. *Phytothérapie*, 11(3), 149-153. Hammi, K. M., Jdey, A., Abdelly, C., Majdoub, H., & Ksouri, R. (2015). Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian Zizyphus lotus fruits using response surface methodology. *Food chemistry*, 184, 80-89.
- Dıđrak, M., İlçim, A., & Hakkı Alma, M. (1999). Antimicrobial activities of several parts of Pinus brutia, Juniperus oxycedrus, Abies cilicia, Cedrus libani and Pinus nigra. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 13(7), 584-587.
- Directive n° 761768/CEE du 27 juillet 1976 (paru au JO L 262 du 27 septembre 1976, p. 169), «concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques 30. MARTINI M.C, SEILLER M. Actifs et additifs en cosmétologie, 3ème édition, Tec&Doc Lavoisier, Mercuès, 2006.».
- Directive n° 761768/CEE du 27 juillet 1976 (paru au JO L 262 du 27 septembre 1976, p. 169), «concernant le rapprochement des législations des États membres relatives aux produits cosmétiques ».
- Djerromi, A. & Nacef, M. (2004). 100 plantes médicinales d'Algérie. Edition. Plais de livre.
- Dongmo, P. J., Tchoumboungang, F., Ndongson, B., Agwanande, W., Sandjon, B., Zollo, P. A., & Menut, C. (2010). Chemical characterization, antiradical, antioxidant and anti-inflammatory potential of the essential oils of Canarium schweinfurthii and Aucoumea klaineana (Burseraceae) growing in Cameroon. *Agriculture and Biology Journal of North America*, 1(4), 606-611. et du Conseil, P. E. (2009). Règlement (CE) No 1223/2009 du PARLEMENT Européen et du Conseil du 30 Novembre 2009 Relatif Aux
- El Hachimi, F., Alfaiz, C., Bendriss, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2017). Activité anti-inflammatoire de l'huile des graines de Zizyphus lotus (L.) Desf. *Phytothérapie*, 15(3), 147-154.
- El Jemli, M., Kamal, R., Marmouzi, I., Zerrouki, A., Cherrah, Y., & Alaoui, K. (2016). Radical-scavenging activity and ferric reducing ability of Juniperus thurifera (L.), J. oxycedrus (L.), J. phoenicea (L.) and Tetraclinis articulata (L.). *Advances in pharmacological sciences*, 2016.
- Elmahi, M., Essassi, E. M., Hamamouchi, M., & Hamamouchi, J. (1997). Study on the antimicrobial and antibilharzia activity of Zizyphus vulgaris. *Fitoterapia*, 68, 34-36.

- EMLab. *Pseudomonas aeruginosa*, <<https://www.emlab.com/s/sampling/env-report-03-2007.html>> (2007), page consultée le 24 octobre 2017.
- Esclamanti, S. (2008). L'huile de cade: un remède naturel. *Nos Ancêtres: Vie & Métiers*, 31, 20-21.
- Fassan, M., Saraggi, D., Balsamo, L., Cascione, L., Castoro, C., Coati, I., ...&Zambon, C. F. (2016). Let-7c down-regulation in Helicobacter pylori-related gastric carcinogenesis. *Oncotarget*, 7(4), 4915.
- Fernandez, X., Merck, F., & Kerdudo, A. (2012). Conservateurs pour cosmétiques-Généralités et conservateurs antimicrobiens. *Tech. Ing*, 1-21.
- FERNANDEZ, X., MERCK, F., & KERDUDO, A. (2012). Conservateurs pour cosmétiques-Antioxydants et anti-UV.
- Flanagan, J. (2011). Preserving Cosmetics with Natural Preservatives and Preserving Natural Cosmetics. *Formulating, 8Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products*, 169-178.
- Ganachari, M. S., Kumar, S., & Bhat, K. G. (2004). Effect of Ziziphus jujuba leaves extract on phagocytosis by human neutrophils. *Journal of natural remedies*, 4(1), 47-51.
- Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., & Debranx, G. (1961). Ressources médicinales de la flore française.
- Gervais, F. (2001). Remedial action of matrices contaminated by cobalt with supercritical CO₂: contribution to the understanding of the complex formation mechanisms and to the diphasic transfers.
- Ghalem, M., Merghache, S., & Belarbi, M. (2014). Study on the antioxidant activities of root extracts of Zizyphus lotus from the western region of Algeria. *Pharmacognosy Journal*, 6(4), 32-42.
- Ghazghazi, H., Aouadhi, C., Riahi, L., Maaroufi, A., & Hasnaoui, B. (2014). Fatty acids composition of Tunisian Zizyphus lotus L.(Desf.) fruits and variation in biological activities between leaf and fruit extracts. *Natural product research*, 28(14), 1106-1110.
- Ghedira, K., Chemli, R., Richard, B., Nuzillard, J. M., Zeches, M., & Le Men- Olivier, L. (1993). Two cyclopeptide alkaloids from Zizyphus lotus. *Phytochemistry*, 32(6), 1591-1594.
- Ghestem, A., Seguin, E., Paris, M.&Orecchioni, A. M. (2001). Le préparateur en pharmacie, dossier 2. botanique-pharmacognosie-phytothérapie-homéopathie. Edition TEC et DOC.
- Giménez-Arnau, E. (2009). Qu'est-ce qu'un parfum? Diversité des allergènes et législation européenne. *Revue Française d'Allergologie*, 49(3), 279-285.
- Golden, R., Gandy, J., & Vollmer, G. (2005). A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Critical reviews in toxicology*, 35(5), 435-458.
- Gouin, S. (2004). Microencapsulation: industrial appraisal of existing technologies and trends. *Trends in food science & technology*, 15(7-8), 330-347.
- Gourguillon, L., Destandau, E., Lobstein, A., & Lesellier, E. (2016). Comparison of different ways to extract dicaffeoylquinic acids from a halophytic plant. *COMPTEs RENDUS CHIMIE*, 19(9), 1133-1141.
- Guéritte, F., & Sévenet, T. (2007). Les substances naturelles en chimiothérapie anticancéreuse: Les toxines utiles. *Biofutur (Puteaux)*, (276), 35-38.

Guerra, D., Solé, A., Camí, J., & Tobeña, A. (1987). Neuropsychological performance in opiate addicts after rapid detoxification. *Drug and alcohol dependence*, 20(3), 261-270.

Guide de la flore méditerranéenne. Ed. Delanchaux et Niestlé, impréssion : Italie, p :280.

Harborne, J. B., & Baxter, H. (Eds.). (2001). *Chemical dictionary of economic plants*. John Wiley & Sons.

Huang, L., Ye, W., Cai, B., Li, D., Liu, J., & Liu, M. (1990). A preliminary study on the pharmacology of the compound prescription huangqin tang and its component drugs. *Zhongguo Zhong yao za zhi= Zhongguo zhongyao zazhi= China journal of Chinese materia medica*, 15(2), 115-7.

International journal of biological macromolecules, 72, 580-587

International Standardization Organization. *ISO 11930:2012 Cosmétiques - Microbiologie - Évaluation de la protection antimicrobienne d'un produit cosmétique*, <<https://www.iso.org/fr/standard/51037.html>> (2012), page consultée le 26 octobre 2017.

International Standardization Organization. *ISO 1886:2016 Corps gras d'origines animale et végétale - Détermination de la stabilité à l'oxydation (essai d'oxydation accéléré)*, <<https://www.iso.org/fr/standard/69594.html>> (2016), page consultée le 27 mars 2021

International Standardization Organization. *ISO 4720:2009 Huiles essentielles - Nomenclature*, <<https://www.iso.org/fr/standard/42947.html>> (2009), page consultée le 24 mars 2021.

International Standardization Organization. *ISO 29621:2017 Cosmétiques - Microbiologie - Lignes directrices pour l'appréciation du risque et l'identification de produits à faible risque microbiologique*, <<https://www.iso.org/fr/standard/68310.html>> (2017), page consultée le 26 octobre 2017.

Jiang, J. G., Huang, X. J., Chen, J., & Lin, Q. S. (2007). Comparison of the sedative and hypnotic effects of flavonoids, saponins, and polysaccharides extracted from Semen Ziziphus jujube. *Natural Product Research*, 21(4), 310-320.

Judde, A. (2004). Prévention de l'oxydation des acides gras dans un produit cosmétique: mécanismes, conséquences, moyens de mesure, quels antioxydants pour quelles applications?. *Oléagineux, Corps Gras, Lipides*, 11(6), 414-418.

Kabara, J. J. (1997). The Role of Packaging in Product Preservation. In *Preservative-Free and Self-Preserving Cosmetics and Drugs* (pp. 239-254). CRC Press.

Kabir, E. R., Rahman, M. S., & Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40(1), 241-258.

Karaman, I., Şahin, F., Güllüce, M., Ögütçü, H., Şengül, M., & Adıgüzel, A. (2003). Antimicrobial activity of aqueous and methanol extracts of Juniperus oxycedrus L. *Journal of ethnopharmacology*, 85(2-3), 231-235.

Kerdudo, A. (2014). *Optimisation de la conservation des cosmétiques: impact de la formulation, recherche de nouveaux conservateurs naturels, encapsulation* (Doctoral dissertation, Université Nice Sophia Antipolis).

Kiyama, R., & Wada-Kiyama, Y. (2015). Estrogenic endocrine disruptors: Molecular mechanisms of action. *Environment International*, 83, 11-40.

Klimko, M., Boratyńska, K., Montserrat, J. M., Didukh, Y., Romo, A., Gómez, D., ... & Boratyński, A. (2007). Morphological variation of Juniperus oxycedrus subsp. oxycedrus (Cupressaceae) in the

Mediterranean region. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 202(2), 133-147.

Ksoury, R., Megdiche, W., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C., & Abdelly, C. (2007). Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 45(3-4), 244-249.

Kurihara, Y. (1992). Characteristics of antisweet substances, sweet proteins, and sweetness-inducing proteins. *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*, 32(3), 231-252.

Kurihara, Y., Ookubo, K., Tasaki, H., Kodama, H., Akiyama, Y., Yagi, A., & Halpern, B. (1988). Studies on the taste modifiers. I. Purification and structure determination of sweetness inhibiting substance in leaves of *Ziziphus jujuba*. *Tetrahedron*, 44(1), 61-66.

Kusumawati, I., & Indrayanto, G. (2013). *Studies in Natural Products Chemistry: Chapter 15. Natural Antioxidants in Cosmetics* (Vol. 40). Elsevier Inc. Chapters.

Laamouri, A., Ammari, Y., Albouchi, A., Sghaier, T., Mguis, K., & Akrimi, N. (2008). Comparative study of the root system growth and development of three Tunisian jujube species. *Geo-Eco-Trop*, 32, 37-46.

Lacharme, F. (2011). Les produits cosmétiques biologiques: labels, composition et analyse critique de quelques formules. *Th D Pharm, Grenoble France*.

Lafforgue C. Matières premières et produits cosmétiques. Cours de Master 2 Formulation et valorisation des produits cosmétiques présenté à; Faculté des Sciences Pharmaceutiques de Châtenay-Malabry, 2010. 1

Lebreton, P., Bayet, C. & Muracciole, M. (1991). Le statut systématique du Genévrier oxycèdre *Juniperus oxycedrus* L. (Cupressacées): Une contribution d'ordre biochimique et biométrique. *Lazaroa* 12: 21-42

Liu W.K., Ho J.C.K., Cheung F.W.K., Liu B.P.L., Ye W.C. and Che C.T. (2004) Apoptotic activity of betulinic acid derivatives on murine melanoma B16 cell line. *European Journal of Pharmacology* 498: 71-78

Loizzo, M. R., Tundis, R., Conforti, F., Saab, A. M., Statti, G. A., & Menichini, F. (2007). Comparative chemical composition, antioxidant and hypoglycaemic activities of *Juniperus oxycedrus* ssp. *oxycedrus* L. berry and wood oils from Lebanon. *Food chemistry*, 105(2), 572-578.

Maillard, J. Y. (2013). Mechanisms of bacterial resistance to microbicides. *Russell, Hugo & Ayliffe's: Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization*, 108-120.

Maleysson F, Landry G. Cosmétiques: Pistez les ingrédients indésirables. *Que Choisir*. 2016;(545):16-22.

Mansouri, K., & Shaarawy, T. (2011). Continuous intraocular pressure monitoring with a wireless ocular telemetry sensor: initial clinical experience in patients with open angle glaucoma. *British Journal of Ophthalmology*, 95(5), 627-629.

Martini, M. C. (2003). *Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie*. Lavoisier.

Martini, M. C. (2011). *Introduction à la dermatopharmacie et à la cosmétologie*. Lavoisier.

Martini, M. C., & Seiller, M. (1999). Actifs et additifs en cosmétologie

Medchrome. *Staphylococcus aureus*, <<http://medchrome.com/wp-content/uploads/2010/05/s.aureus-agar.jpg>> (2010), page consultée le 24 octobre 2017.

Merck, F. (2017). *La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels: étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique* (Doctoral dissertation, COMUE Université Côte d'Azur (2015-2019)).

Merck, F. (2017). *La biodiversité végétale au service des ingrédients naturels: étude des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes d'extraits végétaux et développement d'un conservateur naturel pour l'industrie cosmétique* (Doctoral dissertation, COMUE Université Côte d'Azur (2015-2019)).

Michel, T. (2011). *Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides)* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).

MicroMol. *Aspergillus brasiliensis*, <<http://www.kontrollstaemme.de/eshop/single-view/bid/78/produkt/aspergillus-brasilie.html>> (2010), page consultée le 24 octobre 2017. <https://www.circulaires.gouv.fr/codes/article_lc/LEGIARTI000028655292/2020-07-26>

Milstein, S. R., Halper, A. R., & Katz, L. M. (2006). Regulatory requirements for the marketing of cosmetics in the United States. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*; Barel, AO, Paye, M., Maibach, HI, Eds, 833-859.

Molino Union internationale pour la conservation de la nature et de ses ressources (2005). A guide to medicinal plants in North Africa. IUCN.

Moreno, L., Bello, R., Beltran, B., Calatayud, S., Primo-Yúfera, E., & Esplugues, J. (1998). Pharmacological screening of different *Juniperus oxycedrus* L. extracts. *Pharmacology & toxicology*, 82(2), 108-112.

Mothana, R. A. (2011). Anti-inflammatory, antinociceptive and antioxidant activities of the endemic *SoqotraenBoswelliaelongata*Balf. f. and *Jatropha unicostata*Balf. f. in different experimental models. *Food and Chemical Toxicology*, 49(10), 2594-2599.

Mounni, S.(2008). Etude de la fraction glucidique des fruits de *Celtis australis* L., *Crataegus azarolus* L., *Crataegus monogyna* Jacq., *Elaeagnus angustifolia* L., et *Zizyphus lotus* L.,Mémoire de Magistère en Agronomie, Université de Batna,.

Mukharjee P.K., Mukharjee K., Rajesh Kumar M., Pal M. and Saha B.P. (2003) Evaluation of the wound healing Activity of Some Herbal Formulations. *Phytother. Res.* 17: 265-268

Mussard, J. (2006). *Les parabens, des conservateurs omniprésents: un risque pour la santé* (Doctoral dissertation, Thèse doctorat, Faculté de pharmacie, Université de Nante, France).

National Toxicology Program. *Report on Carcinogens, Thirteenth Edition*, <<http://ntp.niehs.nih.gov/pubhealth/roc/roc13/>> (2014) , page consultée le 13 septembre 2016.

NATRUE. *NATRUE*, <<http://www.natrue.org/fr/activities/natrue-label/>> (2016), page consultée le 28 septembre 2016.

NATRUE. *Produits certifiés NATRUE*, <<http://www.natrue.org/fr/consumers/produits-certifies-natrue/>> (2016), page consultée le 28 septembre 2016.

Nychas, G. J., & Tassou, C. C. (2014). PRESERVATIVES| Traditional Preservatives–Oils and Spices.

Olivero-Verbel, J., González-Cervera, T., Güette-Fernandez, J., Jaramillo-Colorado, B., & Stashenko, E. (2010). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils isolated from Colombian plants. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 20(4), 568-574.

Pandey, V. B., and S. Devi, "Biologically active cyclopeptide alkaloids from Rhamnaceaplants," *Planta Medica*, vol.56, no. 6, pp. 649–650, 1990

Patrone, V., Campana, R., Vittoria, E., & Baffone, W. (2010). In vitro synergistic activities of essential oils and surfactants in combination with cosmetic preservatives against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Current microbiology*, 60(4), 237-241.

Pitt, T. L., McClure, J., Parker, M. D., Amézquita, A., & McClure, P. J. (2015). *Bacillus cereus* in personal care products: risk to consumers. *International journal of cosmetic science*, 37(2), 165-174.

Pop, A., Kiss, B., & Loghin, F. (2013). Endocrine disrupting effects of butylated hydroxyanisole (BHA-E320). *ClujulMedical*, 86(1), 16.

Prescott, L M., Harley, J. P., Klein , D. A., Bacq-Calberg, C. M., & Dusart, J. (2003). *Microbiologie*. 2ème Édition française. *De Boeck. Belgium*, 1137.

Rauwel, G., Leclercq, L., Criquelion, J., Aubry, J. M., & Nardello-Rataj, V. (2012). Aqueous mixtures of di-n-decyldimethylammonium chloride/polyoxyethylene alkyl ether: dramatic influence of tail/tail and head/head interactions on co-micellization and biocidal activity. *Journal of colloid and interface science*, 374(1), 176-186.

Rios, J. L., Recio, M. C., & Villar, A. (1988). Screening methods for natural products with antimicrobial activity: a review of the literature. *Journal of ethnopharmacology*, 23(2-3), 127-149..

ROLLAND, Y. (2004). Actualité des lipides en cosmétique: Antioxydants naturels végétaux. *OCL. Oléagineux, corps gras, lipides*, 11(6), 419-424.

Royal Society of Chemistry. Chemical Identifier Search [Internet]. ChemSpider. 2015 [cité 30 janv 2017]. Disponible sur: <http://www.chemspider.com/Search.aspx>

Rsaissi,N.,ELKamili,B.Bencharki,L.Hillali,andM.Bouhache, “Antimicrobial activity of fruits extracts of the wild jujube ‘Ziziphus Lotus(L.) Desf.,”International Journal of Scientific & Engineering Research, vol. 4, pp. 1521–1528, 2013.

Smith, C. N., & Alexander, B. R. (2005). The relative cytotoxicity of personal care preservative systems in Balb/C 3T3 clone A31 embryonic mouse cells and the effect of selected preservative systems upon the toxicity of a standard rinse-off formulation. *Toxicology in vitro*, 19(7), 963-969.

The Francis Crick Institute. *Preventing fungal infections in blood*, <<https://www.crick.ac.uk/news/science-news/2014/07/17/preventing-fungal-infections-in-blood/>> (2014), page consultée le 24 octobre 2017. *natrue/*> (2016), page consultée le 28 septembre 2016.

Travassos, A. R., Claes, L., Boey, L., Drieghe, J., & Goossens, A. (2011). Non-fragrance allergens in specific cosmetic products. *Contact Dermatitis*, 65(5), 276-285.

Van Beek, T. A., Deelder, A. M., Verpoorte, R., & Svendsen, A. B. (1984). Antimicrobial, antiamebic and antiviral screening of some Tabernaemontana species. *Planta medica*, 50(02), 180-185.

Vergeat, B. E., & Berger, T. (2014). Les produits de santé: synthèse de l'actualité juridique 2013. *Journal de médecine légale, droit médical, victimologie, dommage corporel*, (1-2), 65-79.

Wahida, B., Abderrahman, B., & Nabil, C. (2007). Antiulcerogenic activity of Zizyphus lotus (L.) extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 112(2), 228-231.

White, B., Rice, L., & Howard, L. R. (2012). *The procedure, principle, and instrumentation of antioxidant phytochemical analysis* (pp. 25-68). John Wiley & Sons.

Yim, E., Nole, K. L. B., & Tosti, A. (2014). Contact dermatitis caused by preservatives. *Dermatitis*, 25(5), 215-231.

Yuge, R., Kitadai, Y., Tanaka, S., Uraoka, N., Sentani, K., Yasui, W., & Chayama, K. (2016). Regression of cecal MALT lymphoma after antibiotic treatment in a patient with Helicobacter pylori infection. *Internal Medicine*, 55(2), 135-139.

Zhang, C., Yu, H., Xu, H., & Yang, L. (2015). Expression of secreted phospholipase A2- Group IIA correlates with prognosis of gastric adenocarcinoma. *Oncology letters*, 10(5), 3050- 3058.