

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITÉ de BLIDA 1



Faculté de Technologie Département de Génie des Procédés

**Application d'une combinaison polymère
hydrosoluble/biotensioactif dans la conception d'un gel**

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Génie de polymère

Présenté par :

DJEBBAR ABDERRAHMANE

MOUHOUBI HICHEM

SAHRAOUI ZAKARIA

Encadré par :

MOHAMED FETTAKA

Année universitaire **2021/2022**

REMERCIEMENTS

Nous remercions DIEU de nous avoir donné le courage, la santé et la volonté d'accomplir ce travail. Ce travail a été effectué au niveau du Département Génie de procédé pav 22.

Pour cela, nous tenons à exprimer notre gratitude envers notre promoteur PR. FETTAKA MOHAMED, pour nous avoir guidés et encadrés tout au long de notre projet.

Tous les membres de jury qui nous feront l'honneur d'examiner et de juger notre travail.

Nous adressons nos plus sincères remerciements à tous mes enseignants de département de génie de polymère qui ont contribué à ma formation.

Et pour finir, nous exprimons notre reconnaissance envers toutes personnes ayant aidé de près ou de loin à la réalisation et la bonne conduite de ce travail, ainsi que toute personne nous ayant soutenu et offert les moyens matériels et moral afin de conclure ce travail.

Dédicace de Djebbar Abderrahmane

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère LOUNISSA pour son amour qui n'a jamais cessé de prier pour moi, pour ses encouragements, ses orientations et son soutien durant tout le long de mes études.

A mon très cher père FETHI, pour ses encouragements, surtout pour son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de mes études.

A ma sœur WISSAM. A mes très chers frères : HAMZA, YACINE. A tout la famille DJEBBAR et MOUAICI.

A tous ceux qui contribues de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A mes collègues A tous mes amies spécialement Oussama, REMZI, Laoufi, Mehdi, Azzedine et joni tout groupe AM.Graphic, Oussama, Chakib, Karim ,TOUATI, AMINE DJARI , AMINE ZAMIME ,AMINE 26, TECH, et tout GROUP SONA3 ELKHIR .

Dédicace de Mouhoubi Hichem

Je dédie ce mémoire à :

En premier lieu ma ma mère pour ses
innombrables sacrifices sans qui je n'aurais
jamais réussi

Mes frères Yacine , Fares (alias Mr.Dudley) , et
Izem mon jumeau

A mino pour son soutien indéfectible

Mes oncles et ma tante

Plus particulièrement, mon oncle Tadjedine
, Tata Nadia, mes cousines Ryma et Ibtisseem et
mon cousin Riadh pour m'avoir accueilli chez
eux et s'être occupé de moi

A tous ceux qui se battent pour la liberté des
peuples contre les oppresseurs qui ont volé le
destin de milliers de gens.

Dédicace de SAHRAOUI ZAKARIA

A mes chers parent pour leur encouragement et leur sacrifices ,
A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon
parcours universitaire,

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux A nos
formateurs et toute l'équipe pédagogique du l'université Saad
dahlab pour l'aide qu'ils ont toujours porté à nous les étudiants
merci beaucoup

ملخص :

Sapindus الهدف الأساسي من هذا البحث هو تقييم وتثمين مستخلصات الفاكهة من شجرة وهي نوع شائع إلى حد ما في الجزائر. سيتم إجراء هذا الاسترداد على وجه الخصوص ، Mukorossi ، من خلال إعداد عمليات استخراج مختلفة. سوف نولي اهتمامًا خاصًا للمادة الفعالة الموجودة في هذه المقتطفات والتي لها خصائص مثيرة للاهتمام والعديد من الاستخدامات ، خاصة في شكل مادة هلامية ، سيتم تفصيل تصميمها وخصائصها في هذا العمل.

Abstract :

The primary objective of this research is the evaluation and valorization of fruit extracts from the Sapindus Mukorossi tree, a fairly common tree species in Algeria. This recovery will be done in particular by the implementation of different extraction processes. We will pay particular attention to an active substance present in these extracts which has interesting properties and a multitude of uses, more particularly in the form of a gel, the design and properties of which will be detailed in this work.

Résumé :

Cette recherche a pour objectif premier l'évaluation et la valorisation des extraits des fruits de l'arbre Sapindus Mukorossi, une espèce d'arbre assez commune en Algérie. Cette valorisation se fera notamment par la mise en place de différents procédés d'extraction . Nous accorderons une attention particulière à une substance active présente dans ces extraits qui possède des propriétés intéressantes et une multitude d'utilisations, plus particulièrement sous la forme d'un gel , dont la conception et ses propriétés vont être détaillé dans ce travail.

Mots clés : Saponine, extraction, tensioactif

Liste des Figures

Figure 1 : Formulation générale d'un gel hydroalcoolique

Figure 2: Poudre et motif répétitif du Carbomer 980

Figure 3 : structure de la glycérine

Figure 4 : structure chimique de la vitamine E (antioxydant)

Figure 5 : Exemple de structure d'un terpène

Figure 6 : Phtaléine du phénol incolore à pH inférieur à 8 elle devient nettement rouge à pH 10.

Figure 7 : Structure du chlorure de benzalkonium (à droite), structure du triclosan (à gauche)

Figure 8: Structure des principaux squelettes des génines triterpéniques

Figure 9: Exemples de génines triterpéniques

Figure 10: Structures de base des saponines stéroïdiques

Figure 11 : Exemples de génines stéroïdiques

Figure 12: structure de saponines stéroïdes alcaloïdiques

Figure 13: Les différents sucres constitutifs des saponines

Figure 14: Les différents acides organiques rencontrés dans les saponines

Figure 15: Structure typique d'une molécule de saponine

Figure 16 : comportement des molécules tensioactives dans l'eau en fonction de leur concentration

Figure 17: Exemples de structure de biotensioactif

Figure 18: Les principaux procédés d'extraction des saponines

Figure 19 : Exemple d'une filtration

Figure 20 : Schéma du protocole d'extraction N°1

Figure 21 : Protocole d'extraction N°2

Figure 22 : [Tensiomètre](#)

Figure 23 : Evaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif

Figure 24 : Cristallisation de saponine

Figure 25 : Courbe de la variation de la tension superficielle en fonction de la concentration des solutions en extraits de fruit de Sapindus Mukorossi

Figure 26 : Courbe de la variation de la conductivité en fonction de la concentration des solutions en extraits de fruit de Sapindus Mukorossi

Figure 27 : Exemple de spectre d'absorption obtenu lors de l'analyse UV-visible

Figure 29 : Rhéomètre ANTON PAAR PHYSICA RHEOLAB MCR 302

Figure 30 : Evolution de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement pour des gels à base d'hydrolats (0 et 5%)

Figure 31 : Evolution de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement pour des gels à base d'hydrolats (5% et 10, 15%)

Figure 32 : *Courbe d'écoulement 0 et 5% hydrolat*

Figure 33 : Courbes d'écoulement des gels à base d'hydrolat (5, 10 et 15%)

Figure 34 : Culture de bactéries en présence de gel à blanc (à gauche) ; Culture de bactéries en présence de gel hydrolat 5% (à droite)

Figure 35 : Culture de levures et moisissures en présence du gel à blanc (à gauche) ; Culture de levures et moisissures en présence de gel hydrolat 5% (à droite)

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Matériels et produits utilisés

Tableau 2 Formulation pour la préparation des différents gels

Tableau 3 : Résultats du Modélisation des courbes d'écoulement_

Tableau 4 : Résultats du Caractérisation rhéologique

Tableau 5 : Résultats du DGAT et du DMLT

Liste des Abréviations

BAC= chlorure de benzalkonium

APG= alkylpolyglucoside

NO= oxyde de nitrite

CMC= concentration micellaire critique

TEA= Triéthanolamine

Na Cl= Chlorure de Sodium

DGAT = dénombrement des germes aérobies totaux

DMLT = dénombrement des levures et des moisissures

TSE = Tryptone Sel Eau

TSB = Tryptone Soja Broth

TSA = Tryptone Soja Agar

SOMMAIRE

Introduction générale	2
-----------------------------	---

Partie théorique

1/ Les gels antibactériens

1.1 Définition	4
1.2 Formule générale d'un gel antibactérien	4
1.3 Généralités sur les gels	5
1.3.1 Définition des gels	5
1.3.2 La gélification	5
1.3.3 Les agents de gélification	5
1.3.4 Les autres additifs	6
1.3.5 Les émoullients	6
1.3.6 Les conservateurs	7
1.3.7 Les parfums	7
1.3.8 Les colorants	8
1.3.9 Le principe actif (antibactérien)	9

2/ Présentation du genre Sapindus

2.1 Composition chimique	9
--------------------------------	---

3/ Généralités sur les saponines

3.1 Structure des saponines	10
3.1.2 Structure des génines	10
3.1.2.1 Génines triterpéniques	10
3.1.2.2 Génines stéroïdiques	12
3.1.3 Les alcaloïdes stéroïdiques	14
3.1.4 Les sucres	14

3.1.5 Les acides organiques	15
3.2 Les propriétés des saponines	16
3.3 Domaine d'utilisation	17
3.4 Avantages d'application des tensioactifs naturels	18
3.4.1 Avantages des biosurfactants	18
<u>4/ Les procédés d'extraction des saponines</u>	19
<u>5/ Activité microbiologique des saponines</u>	20
5.1 Rôle pharmacologique des saponines	20
5.1.1 Activité antimicrobienne	20
5.1.2 Effet immuno- modulateur et anti-inflammatoire.	20

Partie expérimentale

Matériels et méthodes

1 .Objectif de travail	22
2. Matériels et produits	23
3. Modes opératoires	24
3.1 Techniques d'extraction	24
3.1.1 La macération	24
3.1.1.1 L'extraction	24
3.1.1.2 La centrifugation	24
3.1.1.3 La filtration	24
3.1.2 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°1	25
3.1.3 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°2	28
3.2 Caractérisation des saponines	29
3.2.1 Spectrométrie UV-visible	29
3.3 Détermination de la concentration micellaire critique (CMC)	29
3.3.1 Détermination de la CMC grâce à la tension superficielle	30
3.3.2 Détermination de la CMC grâce à la conductivité	30
3.4 Analyse rhéologique	31
3.5 Analyse microbiologique	31

Résultats et discussion

1. Résultats de l'extraction de poudre de saponines	.34
1.1 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°1	.34
1.2 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°2	.35
2. Détermination de la CMC	.36
2.1 Détermination de la CMC avec la tension superficielle	.36
2.2 Détermination de la CMC avec la conductivité	.37
3. Résultats de caractérisation des saponines	.37
3.1 Spectrométrie UV-visible	.37
4. Résultats de l'analyse rhéologique	.39
4.1. Méthodes de caractérisation	.40
4.2. Modélisation des courbes d'écoulement.	.42
4.2.1 Résumé des résultats.	.42
4.3 Caractérisation rhéologique	.43
4.3.1 Résumé des résultats	.45
4.4 Conclusion.	.45
5. Résultats de l'analyse microbiologique	.46
Conclusion	.49

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale :

L'Algérie, au début du XXe siècle préconisait l'intensification du Sapindus (Journal la Quinzaine Coloniale de juin 1908).

Le développement de principes actifs à partir de ressources naturelles commence à constituer un moyen incontournable pour développer de nouvelles alternatives aux principes actifs synthétiques.

Dans cette étude, nous cherchons à valoriser le fruit d'un arbre introduit depuis l'époque coloniale à savoir le Sapindus. Notre intérêt s'est porté sur l'extrait du Sapindus dont la composition est diversifiée. Elle est constituée de saponines (10 % à 11,5 %), les sucres (10 %) ajoutés à sa forte teneur en composés triterpéniques .

Le fruit est formé par une coque charnue, luisante, devenant coriace, gommeuse, translucide par la dessiccation. En raison de leur teneur en saponine, à pouvoir détergent, les noix de *Sapindus* sont utilisées comme alternative aux lessives classiques. Dans ce cas, les fruits sont appelés « noix de lavage » ou « noix de lavage indiennes ». Deux à trois coquilles placées dans un sac, dans le tambour d'une machine à laver, permettraient de laver le linge à partir de 30 °C, les coquilles pouvant être réutilisées plusieurs fois. L'utilisation des noix de lavage a pu être préconisé par le passé, comme en Algérie au début du XXe siècle [1]

Notre objectif dans ce projet de fin d'études est de réaliser l'extraction de la matière active contenue dans les fruits de l'arbre de Sapindus et sa mise en œuvre dans la formulation d'une texture destinée à une application bactéricide.

Ce manuscrit se subdivise en trois parties:

- D'abord, une étude théorique avec deux volets; l'une est réservée à la description des gels et l'intérêt d'incorporation des matières actives dans les formulations parapharmaceutiques alors que dans le second on s'intéresse particulièrement aux extraits du fruits de Sapindus.

-La partie expérimentale se résume à la description des extraits et à la formulation des gels enrichis en saponines et dont les textures plastiques sont générées par la présence de gélifiants polymères.

- Dans la dernière partie, des suivis de mesure rhéologique et microbiologique permettront de s'assurer de l'état des textures et de l'activité bactéricide des gels préparés.

Partie théorique

1/ Les gels antibactériens :

1.1.Définition :

Le désinfectant pour les mains, également appelé antiseptique pour les mains, est un agent appliqué sur les mains dans le but d'éliminer les organismes pathogènes courants. Les désinfectants pour les mains se présentent généralement sous forme de mousse, de gel ou de liquide.

Leur utilisation est recommandée lorsque le savon et l'eau ne sont pas disponibles pour le lavage des mains ou lorsque le lavage répété des mains compromet la barrière cutanée naturelle (par exemple, en provoquant des irritations ou des fissures dans la peau).

Bien que l'efficacité des désinfectants soit variable, il est utilisé comme moyen simple de contrôle des infections dans une grande variété de contextes, des garderies et des écoles aux hôpitaux et aux cliniques de soins de santé et des supermarchés aux bateaux de croisière. [2]

1.2. Généralités sur les gels :

1.2.1 Définition des gels :

D'une manière générale, le gel est un état de la matière. Il s'agit d'une solution ou une suspension colloïdale qui subit une transformation physique ou chimique conduisant à un état semi-solide tout en conservant une grande partie du solvant à l'intérieur de sa structure.

Un gel macromoléculaire est précisément une matrice polymère gonflée par une grande quantité de solvant ; les chaînes polymères étant connectées entre elles pour former un réseau qui sert à retenir le liquide et qui donne au gel sa rigidité.[4]

1.2.2. La gélification :

La gélification est un procédé chimique qui consiste à transformer un liquide en gel. La réaction chimique responsable de ce phénomène servira à emprisonner les liquides au sein d'un réseau tridimensionnel constitué de macromolécules telles que des protéines (ex : gélatine, protéines d'œuf) soit des polysaccharides (ex : agar-agar, carraghénane).

Pour obtenir une gélification la présence des polymères est nécessaire. On peut considérer " l'état gel " comme étant un état intermédiaire entre l'état liquide et l'état solide. Pour réaliser une gélification il faut utiliser un additif dénommé gélifiant. On en retrouve dans les fruits, les produits animaux et dans de nombreuses algues.[4]

1.2.3. Les agents de gélification

Un gélifiant est une substance ayant la propriété de permettre de former un gel. Les agents gélifiants sont des additifs alimentaires utilisés pour épaissir différents aliments tels que les gelées, les desserts et les bonbons. Ces substances gonflent dans l'eau ou se lient avec l'eau, conduisant ainsi à la gélification.

Ce gélifiant est un additif rhéologique pouvant être employé dans différentes catégories de peintures, enduits, encres d'imprimerie, graisses, forage de puits de pétrole...

Certains stabilisants et épaississants sont également des agents gélifiants. Les agents gélifiants typiques comprennent les amidons, la pectine (E440), la gomme arabique (E414), l'agar-agar (E406), un polysaccharide obtenu à partir d'algues rouges) et d'autres phycocolloïdes comme les carraghénanes (E407).[5]

Les carbomer sont des poly (acide acrylique) réticulé qui font office d'épaississant, agent gélifiant, stabilisateur de suspensions et d'émulsions. Les carbomer se présentent sous la forme d'une fine poudre blanche amorphe très hydrophile qui gonfle énormément dans l'eau, l'alcool et les solvants polaires en général [6].

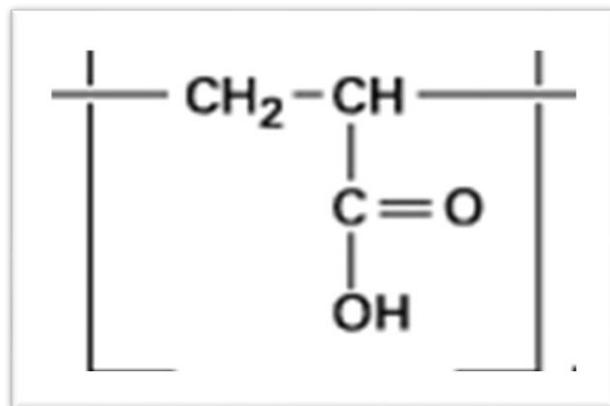


Figure 1: Poudre et motif répétitif du Carbomer 980

1.2.4. Les émoullients :

Les émoullients sont des produits qui hydratent, assouplissent les tissus et adoucissent la peau. Ils sont utilisés pour éviter que la peau devienne sèche voire très sèche, atopique, épaissie, rugueuse... Ils ont pour objectif de la nourrir, l'hydrater, l'assouplir, de garder la peau saine et protégée durablement.

L'émollient évite que la peau ne tiraille et ne craque. Il procure une sensation immédiate d'hydratation et de confort. Des bienfaits particulièrement utiles si on souffre d'affection de la peau. [3]

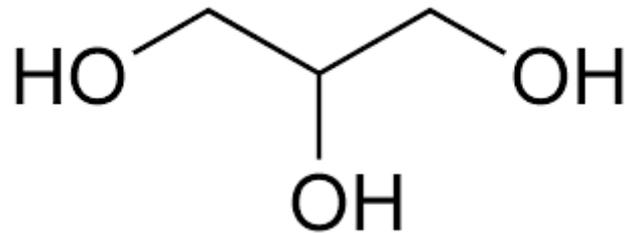


Figure 2 : structure de la glycérine

1.2.5 Les conservateurs :

- Les conservateurs ont pour but d'empêcher la prolifération des microorganismes. Aujourd'hui, ils sont majoritairement d'origine synthétique, mais de plus en plus de « conservateurs » d'origine naturelle sont présents dans les cosmétiques.

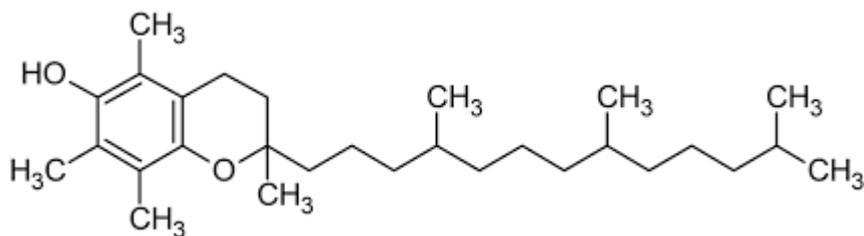


Figure 3 : structure chimique de la vitamine E (antioxydant)

1.2.6 Les parfums :

- Les parfums sont des compositions liposolubles de substances odorantes, participant au plaisir de l'utilisation du produit.

Exemple :

Formule originale imaginée par Parfumeur-Créateur **Julie ROCHON**.

Formule :

- 8,5 g de Base parfumante Muguet
- 0,2 g d'Huile essentielle de Bergamote sans bergaptène
- 0,3 g d'Acétate de benzyle
- 5 g de Jasmonal H

- 1 g d'Aldéhyde cyclamen
- 2 g d'Héliotropine à 10 %
- 0,03 g d'Irival à 10 %
- 2 g d'Huile essentielle de Neroli à 10 %
- 1 g d'Absolu de Jasmin sambac à 10 %

Ils apportent également une spécificité propre au produit dont l'utilisateur se souvient. De plus, certaines substances parfumantes (huiles essentielles) peuvent présenter une activité.

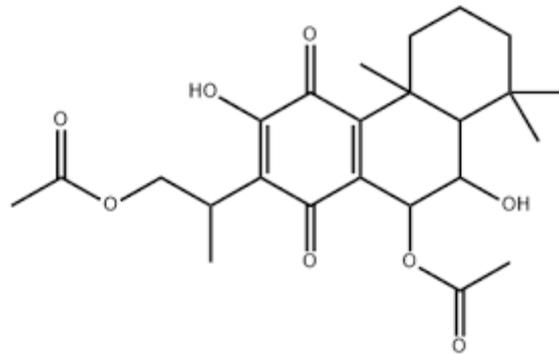


Figure 4: Exemple de structure d'un terpène

1.2.7. Les colorants :

Les colorants confèrent au produit une couleur adaptée et un aspect plus attractif.[7]

Exemple : Phtaléine du phénol incolore à pH inférieur à 8 elle devient nettement rouge à pH 10.

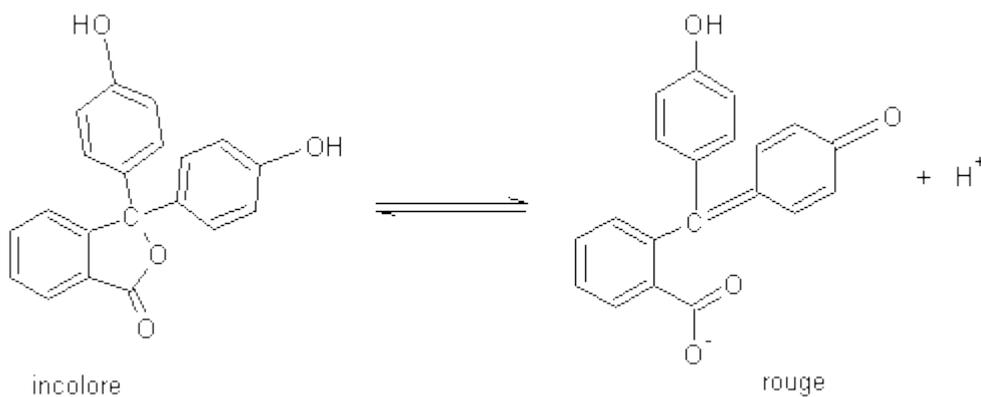


Figure 5 : Phtaléine du phénol incolore à pH inférieur à 8 elle devient nettement rouge à pH 10.

1.2.8. Le principe actif (antibactérien) :

Selon l'ingrédient actif utilisé, les désinfectants pour les mains peuvent être classés en deux types : à base d'alcool ou sans alcool. Les produits à base d'alcool contiennent généralement entre 60 et 95 % d'alcool, généralement sous forme d'éthanol, d'isopropanol ou de n-propanol. À ces concentrations, l'alcool dénature immédiatement les protéines, neutralisant efficacement certains types de micro-organismes.

Les produits sans alcool sont généralement à base de désinfectants, tels que le chlorure de benzalkonium (BAC), ou d'agents antimicrobiens, tels que le triclosan. L'activité des désinfectants et des agents antimicrobiens est à la fois immédiate et persistante.[3]

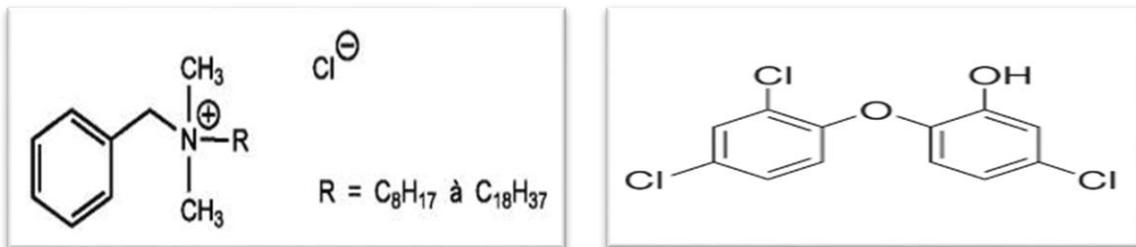


Figure 6 : Structure du chlorure de benzalkonium (à droite), structure du triclosan (à gauche)

1.4. Formule générale d'un gel antibactérien :

De nombreux désinfectants pour les mains contiennent également des émoullissants (par exemple, de la glycérine) qui apaisent la peau, des agents épaississants et des parfums. [3]

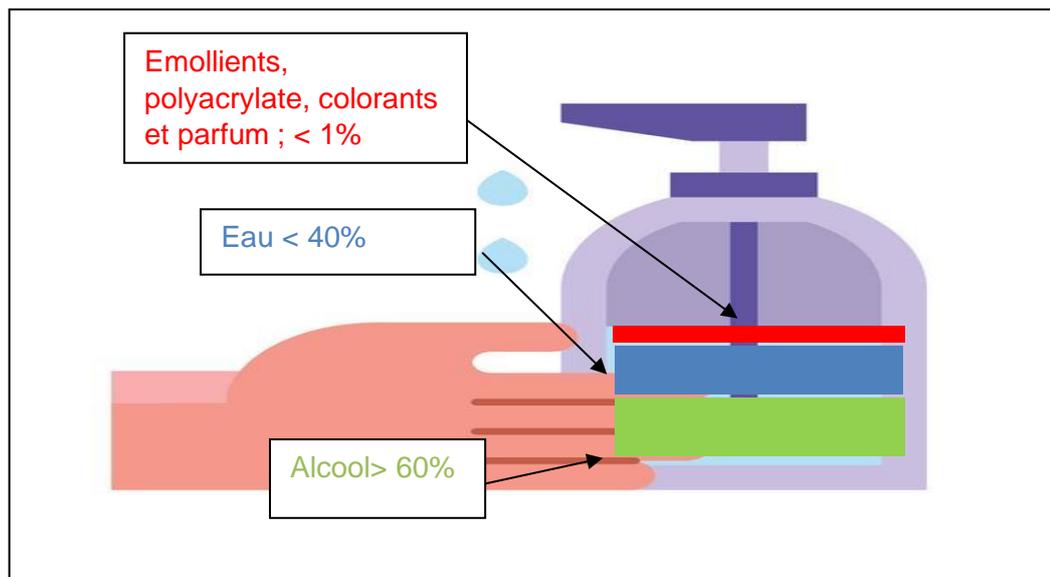


Figure 7 : Formulation générale d'un gel hydroalcoolique

2/ Présentation du genre Sapindus :

Les plantes de la famille *Sapindaceae* sont originaires des régions chaudes tempérées et tropicales du globe. Le genre comporte à la fois des espèces à feuilles caduque ou persistant et est connue principalement à cause de l'utilisation de leurs fruits pour la production ou substitution des détergents.



Figure 7 : Arbre du Sapindus mukorossi et son fruit

D'ailleurs, le nom de la *Sapindaceae* est dérivé du nom Latin *Sapo*, qui signifie

« savon ». Le genre *Sapindus* est constitué de 5 à 12 espèces d'arbustes et des petits arbres dans la famille des Lychees.

2.1.Composition chimique :

Les principaux constituants du fruit de *Sapindus mukorossi* sont les saponines (10 % à 11,5 %), les sucres (10 %) et le mucilage. Les saponines sont des métabolites végétaux secondaires aux activités biologiques divergentes. Les saponines de *Sapindus* sont un mélange de six saponosides (les saponosides A, B, C, D et les saponines de mukorozi (E1 et Y1), dont le saponoside B est l'un des principaux constituants, isolés par extraction au n-butanol de l'extrait éthanolique de péricarpe de fruit de *Sapindus mukorossi* et identifié par chromatographie liquide et spectroscopie de masse [8]

3/ Généralités sur les saponines :

Les saponines, également appelées glycosides de saponine, constituent un vaste groupe d'hétérosides complexes appartenant aux terpènes cycliques ou aux stéroïdes. Une saponine est issue de la combinaison chimique d'un sucre (glucide) et d'un stéroïde, d'un stéroïde alcaloïde ou d'un triterpène. Certaines compositions de l'art antérieur comprennent des saponines stéroïdiennes ou triterpéniques. Dans le cadre de l'invention, les saponines sont préférentiellement non stéroïdiennes. [9]

Les saponosides, appelés aussi les saponines, constituent un vaste groupe d'hétérosides. Ils sont caractérisés par leurs propriétés tensio-actives. C'est pour cette propriété qui est fondée l'utilisation de certaines plantes riches en saponines comme détergents tel que la saponaire (*Saponaria officinalis L.*), qui forme en contact avec l'eau une mousse savonneuse. C'est grâce à leur structure amphiphile que les saponosides possèdent cette propriété tensio-active. En effet, Leur structure comporte deux pôles : un pôle lipophile, qui correspond à la partie génine (aglycane), qui peut être soit de nature stéroïdique, soit de nature triterpénique et un pôle hydrophile qui correspond à la partie sucrée qui est constitué par un ou deux oligosides [10.]

3.1 Structure des saponines :

Au niveau structural, les saponines sont classées en deux groupes en fonction de la nature de leur génine pouvant être de type stéroïdique ou triterpénique. Les unités saccharides qui constituent les saponines sont communes : glucose, galactose, arabinose, rhamnose, xylose fucose et acide glucuronique.

La partie sucre de la molécule peut compter jusqu'à 11 oses liés à la génine par une liaison de type acétal. Habituellement, la liaison glycosidique s'effectue entre une seule section saccharidique et le groupement hydroxyle en position 3 de la génine monodesmoside. Toutefois, un deuxième chaînon peut s'ajouter par une liaison ester avec le carboxyle en position 28 pour donner une bidesmoside. Ces bidesmosides facilement converties en monodesmosides par hydrolyse chimique ou enzymatique, sont de loin les saponines les plus fréquentes de la pharmacopée végétale. [11]

3.1.2 Structure des génines :

Les saponines se divisent en deux groupes catégories à savoir les saponines triterpéniques et les stéroïdiques. Cependant, certains auteurs distinguent un troisième groupe, celle des amines stéroïdiques qui sont aussi connus comme des alcaloïdes stéroïdiques [12]

3.1.2.1 Génines triterpéniques :

Les saponines triterpéniques sont constituées principalement de cinq cycles saturés accolés. Le squelette penta cyclique illustré par le lupane, oléanane, et ursane est courant et observé sur la plupart des structures des aglycones triterpéniques. Elles constituent la majorité des squelettes de base de ces entités [13]

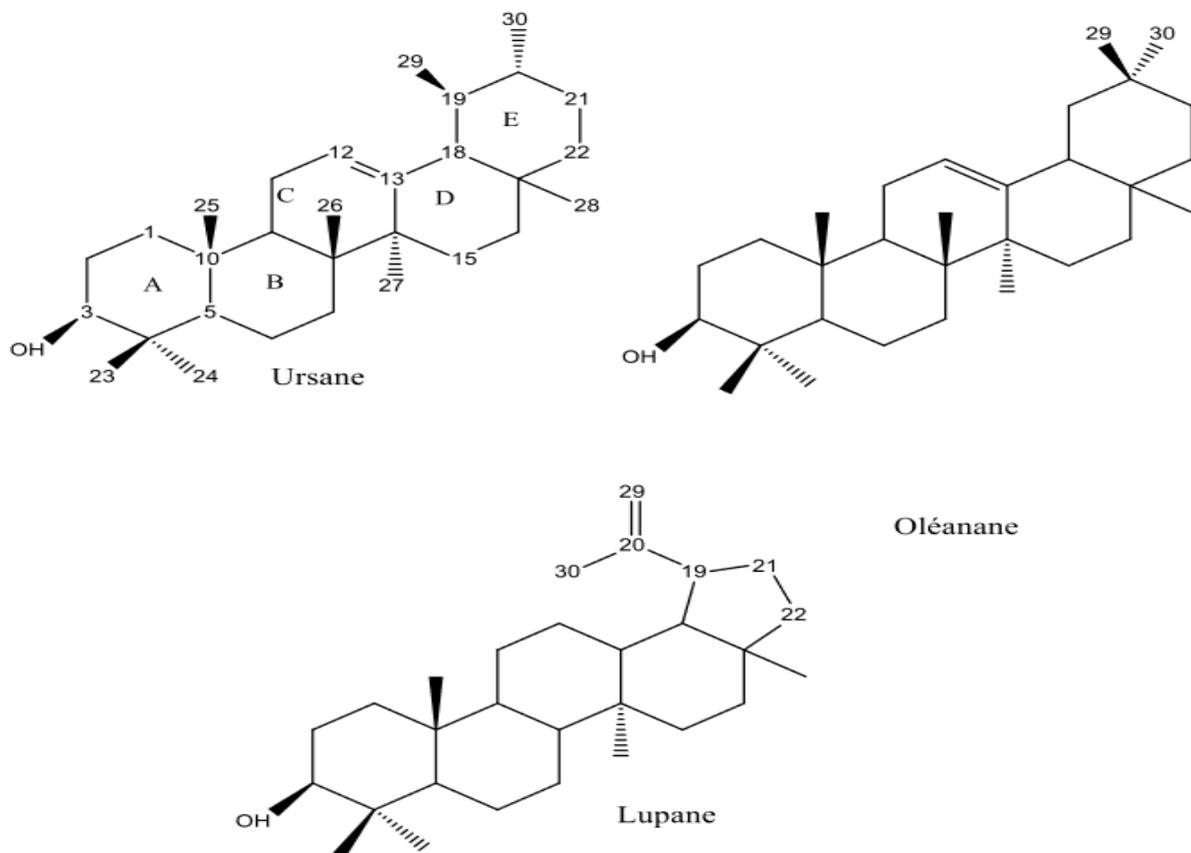


Figure 8: Structure des principaux squelettes des génines triterpéniques

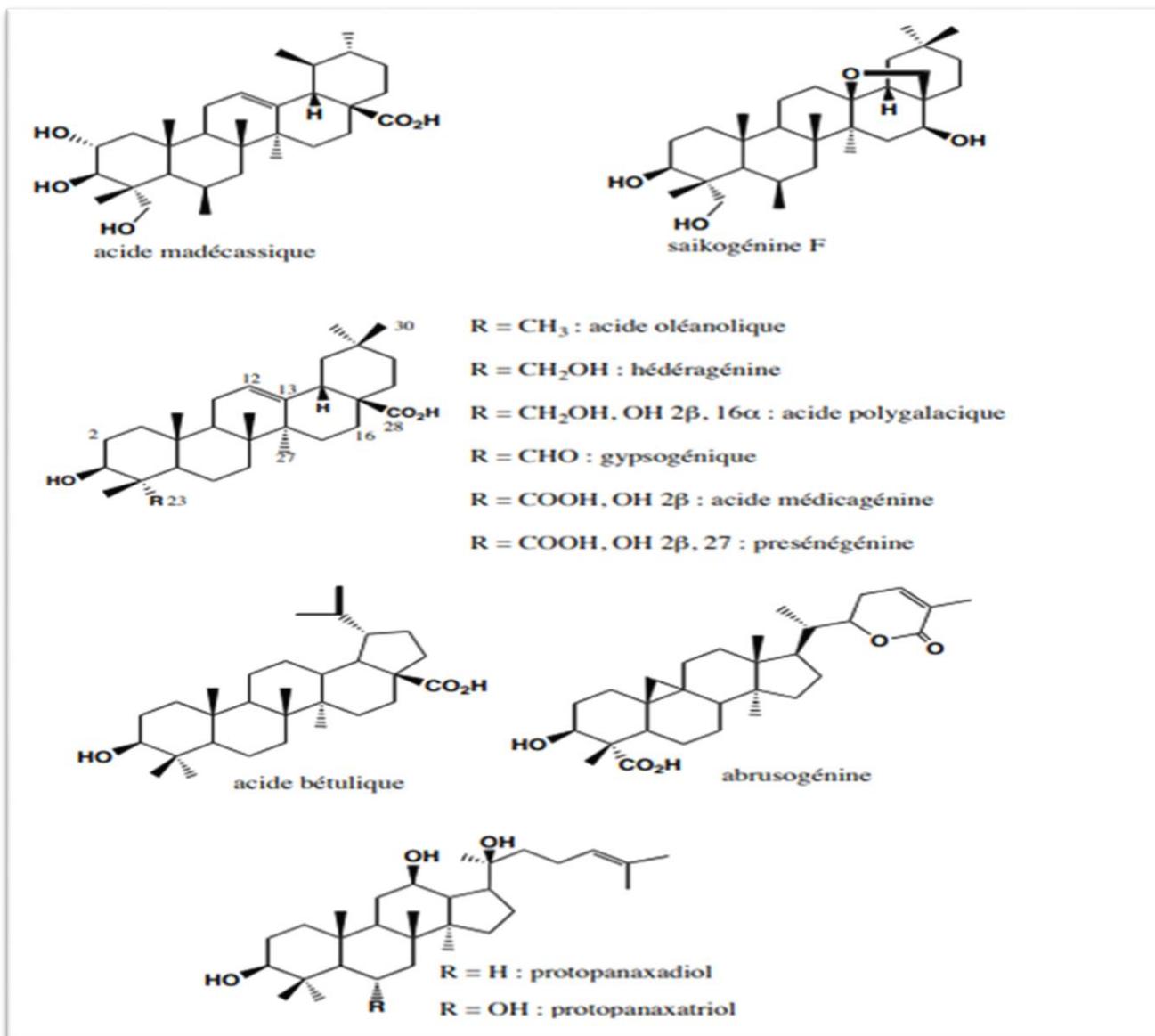


Figure 9: Exemples de génines triterpéniques

3.1.2.2 Génines stéroïdiques :

Ce sont des stérols qui dans la chaîne de cholestérol a subi quelque modification pour aboutir à la formation de deux squelettes basiques. D'un côté, c'est le furostane C26 (structure de cinq noyaux) et de l'autre le spirostane C27 (groupe large avec six noyaux)

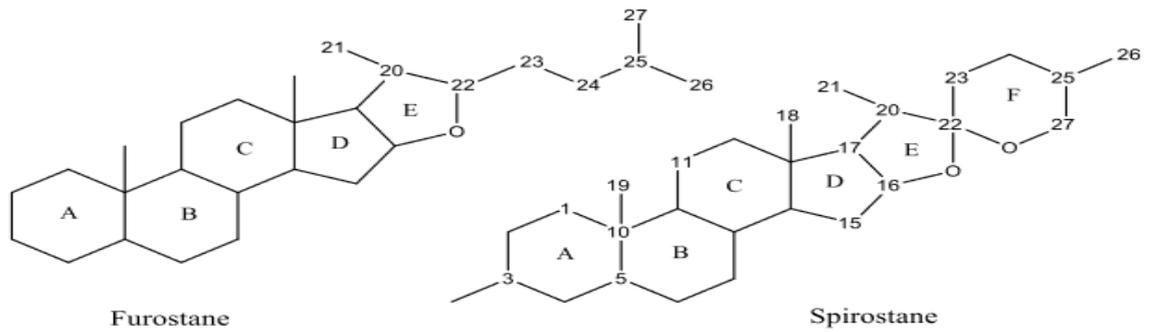


Figure 10: Structures de base des saponines stéroïdiques

Les saponines stéroïdiques ont les activités biologiques similaires à celles des triterpéniques pourtant ce groupe de composé est moins distribuée dans la nature et rencontré principalement dans les familles des Angiospermes monocotylédone [14]

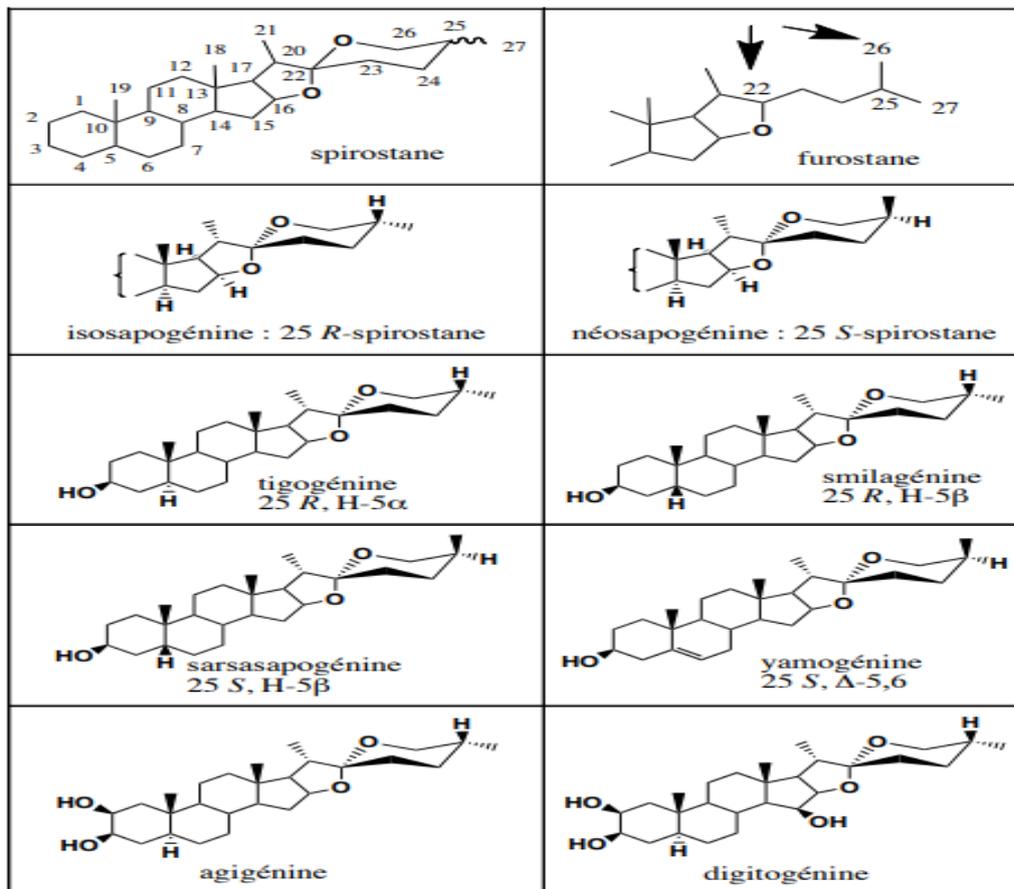


Figure 11 : Exemples de génines stéroïdiques

3.1.3 Les alcaloïdes stéroïdiques

Ce sont les saponines de la troisième classe appelés amines stéroïdiques et ils sont classifiés par d'autres chercheurs comme alcaloïdes stéroïdiques [12]. Actuellement, il y existe aussi des nitrogènes qui sont analogues aux saponines stéroïdiques et possède les mêmes propriétés et activités comme les activités de surfaces et activités hémolytiques mais ces composés sont hautement toxiques en cas d'ingestion (ex : Solanine). Les alcaloïdes stéroïdiques présentent des intérêts économiques importants.

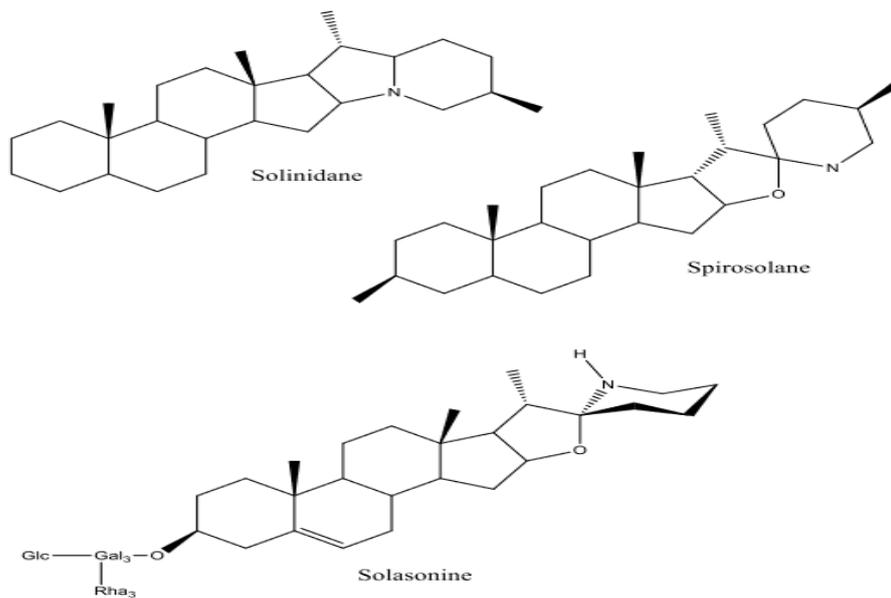


Figure 12: structure de saponines stéroïdes alcaloïdiques

3.1.4 Les sucres :

Les sucres constituent la partie hydrophile des saponines. Elles peuvent être caractérisées par une ou plusieurs chaînes osidiques à structures linéaires ou ramifiées à des positions différentes sur l'aglycone. Généralement l'arabinose, xylose, D-glycose, acide D-glucuronique, D-galactose, L-rhamnose et D-fructose sont les principaux sucres constituants des saponines [15].

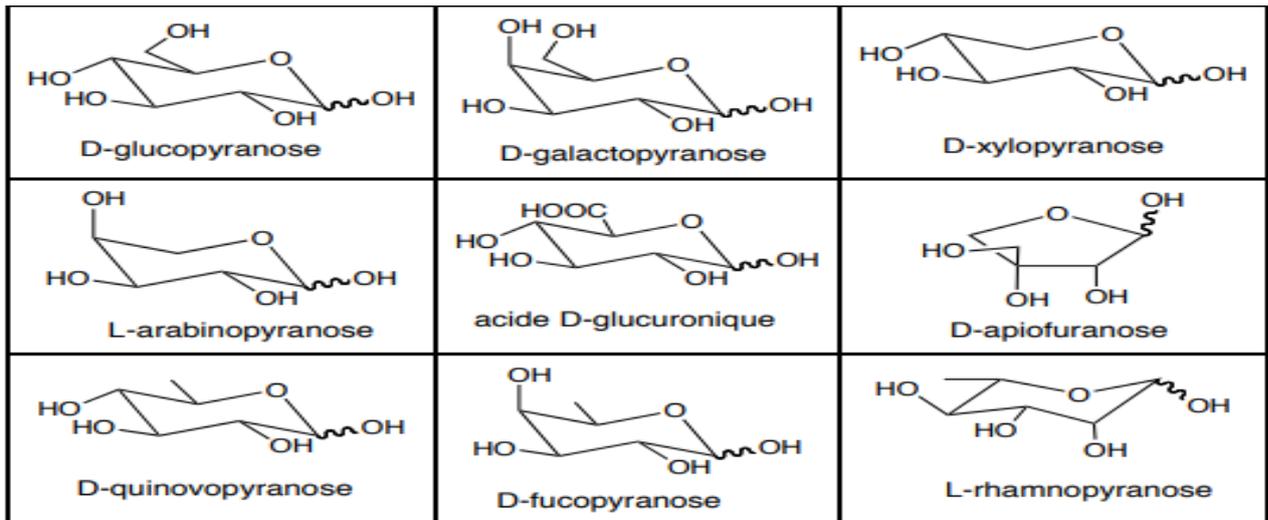


Figure 13: Les différents sucres constitutifs des saponines

3.1.5 Les acides organiques :

Des acides organiques peuvent être fixés au niveau de la génine ou des sucres par une liaison ester. Les structures les plus souvent rencontrées sont récapitulées dans le tableau ci-dessous:

Tableau : Les différents acides organiques rencontrés dans les saponines

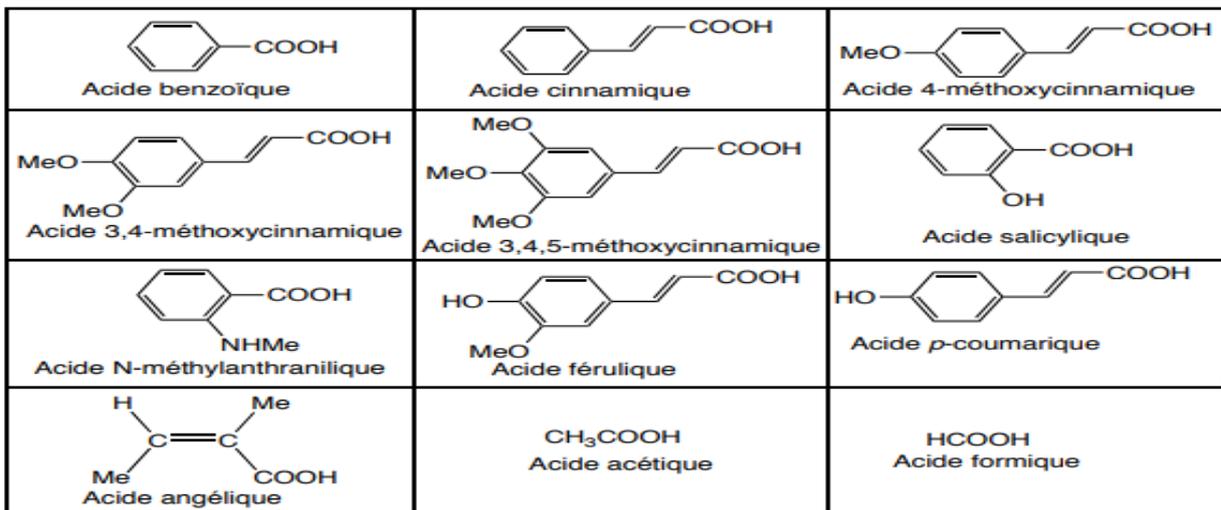


Figure 21: Les différents acides organiques rencontrés dans les saponines

3.2 Les propriétés des saponines :

La complexité structurelle des saponines implique différentes propriétés physiques, chimiques et biologiques et quelques-unes seulement sont communes avec tous les membres de ce groupe divers [16]

Propriété de surface

Les molécules de saponines sont de nature amphiphile due à la présence d'une partie liposoluble (aglycone) et d'une chaîne de sucre hydrosoluble dans leurs structures.

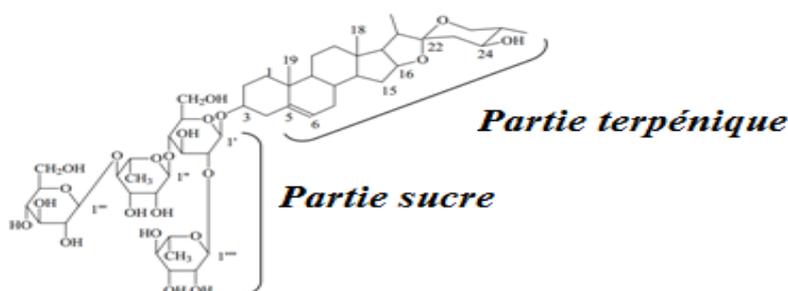


Figure 15: Structure typique d'une molécule de saponine

Elles sont des agents de surfaces avec des pouvoirs de détergence, de mouillance, d'émulsification et notamment de moussage [12].

Rappelons que la deuxième propriété fondamentale des tensioactifs est leur capacité d'association qui se développe à partir d'une certaine concentration appelée concentration micellaire critique, en abrégé CMC [17][18]

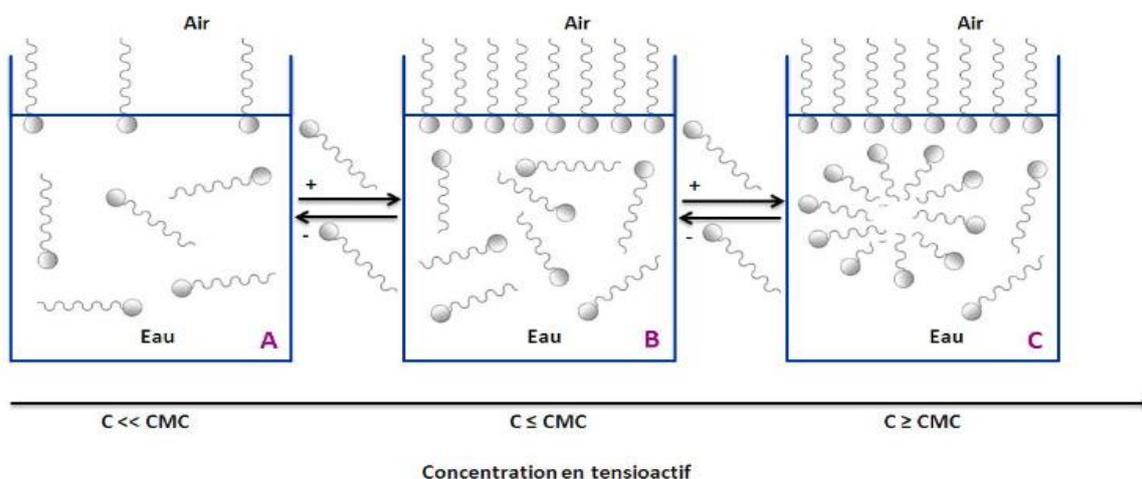


Figure 16: comportement des molécules tensioactives dans l'eau en fonction de leur concentration

La micelle est une structure de type polymère d'association, dans laquelle les molécules de tensioactifs possèdent une énergie libre plus faible qu'en solution. En solution aqueuse la force motrice de la micellisation est l'effet hydrophobe c'est-à-dire la soustraction de la queue lipophile du milieu aqueux. Les micelles sont responsables d'une propriété fondamentale des solutions de tensioactifs : leur pouvoir solubilisant.

La solubilisation micellaire peut se produire suivant divers mécanismes. Elle permet de solubiliser de l'huile dans de l'eau et vice-versa, ce qui est d'un grand intérêt pratique dans de nombreuses applications comme la détergence, la vectorisation de médicaments, la séparation ou l'extraction sélective,

Solubilité

La solubilité des saponines est fonction des propriétés et de la nature des solvants utilisés, influencée par la température, composition et pH. Généralement, ces composées sont des composées ayant des polarités assez importantes donc la solubilité des saponines est plus importante dans l'eau pure, les alcools (méthanol, éthanol) et les solutions aqueuses d'alcools.

C'est donc les solvants courants utilisés pour l'extraction à partir des matières végétales. Pourtant, certaines littératures ont rapporté aussi la solubilité des saponines dans des solvants polaires comme l'éther, chloroforme, benzène, acétate d'éthyle, ou de l'acide acétique glacial [19]

Réactivité

La structure complexe des saponines peut subir des transformations chimiques durant leur stockage ou des processus qui peuvent affecter ou modifier leurs propriétés et activités. La liaison glycoside entre l'unité des sucres et la partie aglycone, et aussi les liaisons inter-glycosides situés entre les sucres résiduels peuvent subir des hydrolyses en présence des acides ou des alcalins.

A température élevée, ces liaisons peuvent subir aussi des réactions d'hydro-thermolyses en présence des molécules d'eau. Des réactions enzymatiques et microbiennes sont issues de la formation, de la partie aglycone, entité des sucres, ou monosaccharides dépendant des méthodes d'hydrolyses ou de ses conditions [12][19]

3.3 Domaine d'utilisation :

En Cosmétique, les saponines sont utilisées comme stabilisateur d'émulsion en cosmétique, et comme amplificateur de mousse dans les shampoings et divers crèmes. En générale, on utilise souvent les alcanolamides pour la préparation des mousses stables, mais due à leur production de nitrosamines, ils sont des composées potentiellement cancérigènes... Selon leurs études, les alcanolamides peuvent être substituées par des saponines dans les formulations des shampoings. D'autres travaux rapportent l'utilisation des saponines de *Q. saponaria* en cosmétique pour la préparation des shampoings et des baumes à lèvres.[19]

Dans l'industrie alimentaire, Les saponines de *Q. saponaria* sont déjà exploitées dans les industries alimentaires. On l'utilise comme agent moussant dans les boissons et confiseries. Les saponines des *Chenopodium quinoa* sont utilisées pour la fabrication des bières. [19]

3.4 Avantages d'application des tensioactifs naturels

Un tensioactif naturel (appelé aussi biotensioactif) est issu de ressources naturelles. Cette source peut être d'origine animale ou végétale. Les tensioactifs naturels doivent être obtenus par des procédés de séparation tels que l'extraction, la précipitation ou la distillation qui n'introduisent pas de pollution.

En réalité, il y a très peu de tensioactifs qui remplissent ces conditions. Les phospholipides, tels que les lécithines, obtenues à partir du soja ou du jaune d'œuf, sont les meilleurs exemples de tensioactif réellement naturel.

Le facteur limitant la production de ces tensioactifs naturels est leur coût de production beaucoup plus élevé que celui des tensioactifs synthétiques aux propriétés équivalentes, car ces produits sont généralement présents en faibles quantités et les procédés de séparations sont laborieux.

Les principaux tensioactifs naturels commercialisés sont soit des dérivés de polyols comme les alkylpolyglucosides (APG), les sucro-esters et les alkylglucamides ; soit des dérivés d'acides aminés. Les tensioactifs dérivés de polyol sont non ioniques, contrairement aux dérivés d'acides aminés [20].

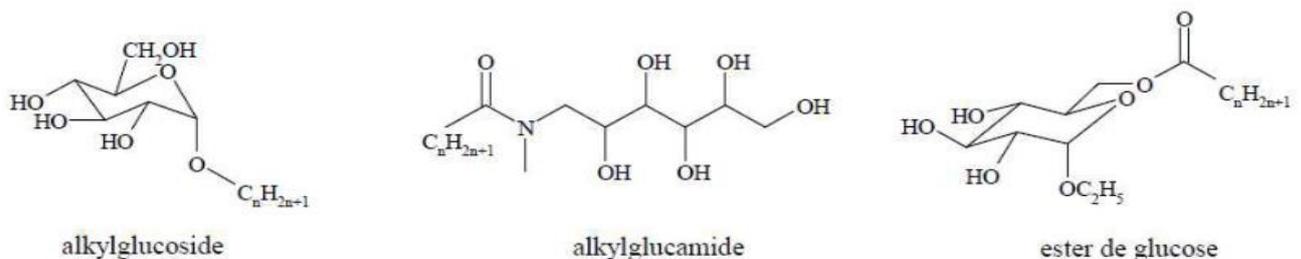


Figure 17: Exemples de structure de biotensioactif

3.4.1 Avantages des biosurfactants :

Les biosurfactants présentent de nombreux avantages par rapport à leurs homologues synthétisés chimiquement, certains d'entre eux sont :

Biodégradables : Les tensioactifs biologiques sont facilement dégradés par les micro-organismes [21][22]

Disponibles : Des biosurfactants peuvent être produits à partir de matières premières très bon marché et disponibles en grande quantité. La source de carbone peut provenir des hydrocarbures, des glucides et/ou des lipides, qui peuvent être utilisés séparément ou en combinaison avec chacun [21][23]

Insensibles aux facteurs physiques : de nombreux biosurfactants ne sont pas affectés par les facteurs environnementaux tels que la température, le pH et la force ionique etc. ... [21][24]

Activité superficielle et interfaciale: La Surfactine par exemple, possède la capacité de réduire la tension superficielle de l'eau à 25 mN/M, et la tension interfaciale eau/hexadécane à moins de 1 mN/M [21][24]

Biocompatibles: Les biosurfactant jouissent d'une biocompatibilité et même une digestibilité, ce qui permet leur application en cosmétique, pharmacie et comme additifs alimentaires fonctionnels[21][23]

4/ Les procédés d'extraction des saponines :

Les techniques d'extraction des saponines se divisent en deux grandes catégories, à savoir : les procédés conventionnels et ceux dits verts. Pour les premiers, les techniques se résument à la macération, les extractions au Soxhlet et au reflux. Pour les seconds, les procédés sont assistés par micro-ondes, par ultrasons et extraction accélérée par solvant.

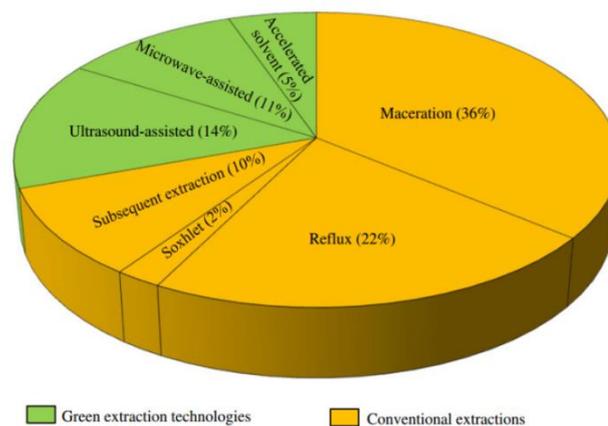


Figure 18: Les principaux procédés d'extraction des saponines

Notons que contrairement aux procédés non conventionnels, l'extraction classique est basée sur la solubilité de soluté à partir de matières végétales dans le solvant. Alors, il utilise souvent une grande quantité de solvant pour extraire le soluté désiré et est parfois aidé avec température élevée par chauffage, et agitation mécanique ou agitation.

- Extraction par macération : Dans cette méthode, la matière est extraite par trempage de la plante dans un solvant spécifique pendant un certain temps. L'éthanol et le méthanol sont généralement utilisés comme solvants d'extraction pour extraire les saponines de la plante.
- Extractions par reflux et Soxhlet : les seules différences entre reflux et Soxhlet est que L'appareil de Soxhlet se compose d'un dispositif pour loger le matériel végétal. Cette technique implique un chauffage de la solution à ébullition puis faire revenir les vapeurs condensées dans le flacon d'origine.
- Extraction ultérieure : La méthode est effectuée sur les matières végétales par deux méthodes d'extraction ensuite. L'utilisation de cette méthode peut entraîner purifier

fortement l'extrait avant de le soumettre à une analyse HPLC pour l'isolement et l'identification de la saponine.

5/Activité microbiologique des saponines :

Les saponines constituent un groupe important d'hétérosides possédant dans leur sein une partie hydrophile constituée de monosaccharides et une partie lipophile communément appelée génine. Ils se caractérisent par une multitude de propriétés dans le domaine microbiologique. Des nombreuses propriétés biologiques des saponines ont été rapportées telles que des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, anti-inflammatoires, antiulcéreuses, hémolytiques et hépato-protectrices [25]. De plus, les saponines ont démontré le potentiel d'agir en synergie avec les antibiotiques, contribuant au recyclage d'anciens antibiotiques autrefois considérés comme inefficaces en raison de problèmes de résistance.

5.1 Rôle pharmacologique des saponines :

5.1. Activité antimicrobienne :

Les saponines de *C. quinoa* se trouvent principalement dans la couche externe du grain notamment le péricarpe [26]

Des prescriptions d'antibiotiques non adaptées entraînent l'apparition de bactéries. Multi-résistantes, ce qui rend essentiel de concentrer les efforts de recherche sur la découverte de nouveaux produits à base de plantes [27]

Les saponines de *C. quinoa* sont connu pour leur activité antimicrobienne. Il a en effet été démontré que les saponines de *C. quinoa* suppriment la croissance des bactéries dans des études pharmacologiques. Ses extraits sont utilisés en agriculture pour la lutte antiparasitaire et la prévention des maladies. la prévention des l maladies fongiformes et virales qui affectent les plantes [28]

Un mélange de saponines totales de quinoa s'est révélé avoir une activité anti-levure [29]. A des concentrations plus élevées ce mélange de saponines est capable de l'éliminer complètement les champignons et les bactéries.

5.1.2 Effet immuno- modulateur et anti-inflammatoire

Les saponines de quinoa possèdent une multitude de propriétés pharmacologiques, notamment des propriétés de protection cardiovasculaire, anti-inflammatoires et immuno

régulatrices. Des recherches récentes ont révélé que les saponines ont une activité anticancéreuse importante, notamment en tant qu'antiprolifération et anti-métastase [30]

Les saponines de *C. quinoa* pourraient être utilisées pour la prévention et le traitement de l'inflammation. Ils offrent un avantage thérapeutique significatif, notamment contre les maladies causées par des niveaux élevés de NO (oxyde de nitrite), qui sont le résultat d'une inflammation, d'une carcinogenèse ou d'une athérosclérose [26]

D'après Estrada et al. (1998), les saponines du quinoa présentent aussi un potentiel comme adjuvant pour les vaccins administrés par voie muqueuse, intragastrique ou intranasale. Chez la souris, l'administration simultanée des saponines avec la toxine cholérique ou de l'ovalbumine a intensifié les réponses d'anticorps spécifiques contre les antigènes dans le sérum.

Partie expérimentale

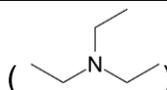
Stratégie du travail:

Cette étude a en premier lieu pour but l'appréciation ainsi la valorisation des extraits des fruits de l'arbre *Sapindus Mukorossi* assez commun en Algérie. Nous allons nous intéresser plus particulièrement à une matière active contenue dans ces extraits, possédant quelques propriétés intéressantes ce qui permet plusieurs applications notamment sous la forme d'un gel. Nous avons donc procédé comme suit :

- Nous avons commencé par extraire la matière active en utilisant différents protocoles d'extraction divisé en 2 types : un protocole visant à obtenir un hydrolat et un protocole visant à obtenir de la matière active brute
- Après la phase d'extraction, nous avons mesuré les différents paramètres permettant de déterminer la concentration micellaire critique (CMC) de la matière active
- Pour finir nous avons conditionné notre extrait sous forme de gel pour procéder à des tests rhéologique et microbiologique et ainsi évaluer ses qualités texturales et bactéricides.
-

1. Matériels et produits :

Tableau 1 : Matériels et produits utilisés

Produits chimiques et matière première		Les appareils utilisés
Réactifs	Ethanol 96%	Conductimètre
	TEA 	Centrifugeuse
Gélifiant	Carbopol 980	Tensiomètre « GIBERTINI »
Poudre de fruit de <i>Sapindus Mukorossi</i>		Spectrophotomètre UV-Visible « SHIMADZU »
Solvants	Butanol	Agitateur magnétique
	Ether diéthylique	Balance « SARTORIUS »
	Heptane	Bain à ultrason « BRANSON »
		Evaporateur rotatif « HEIDOLPH »
		Bain marie « MEMMERT »
		Pompe à vide
		Rhéomètre

3. Modes opératoires :

3.1 Techniques d'extraction :

3.1.1 La macération :

L'une des techniques d'extraction que nous avons sélectionnée est la macération. C'est l'une des techniques les plus facile à mettre en place. Cette technique consiste en une immersion de la matière végétal dans un solvant, le plus souvent de l'eau, afin d'extraire et solubiliser les espèces chimique contenu dans cette plante.

3.1.1.1 L'extraction :

La poudre de fruit de *Sapindus Mukorossi* a été obtenue d'un PFE précédent traitant du fruit de *Sapindus Mukorossi*, ces poudres ont été conservées à l'abri de la lumière et de l'humidité et la présence de saponine a été vérifié par le test de l'indice de mousse. Les poudres ont été retrouvée en très bon état.

La poudre a été mélangée dans de l'eau distillée sous agitation mécanique pendant 24 H à l'abri de la lumière et à température ambiante

3.1.1.2 La centrifugation :

Après la phase de macération une centrifugation est nécessaire pour séparer l'hydrolat et les poudres. Les solutions ont été donc mises dans une centrifugeuse à raison de 6000 tours/min pendant 30 min pour obtenir une séparation maximale.

3.1.1.3 La filtration :

La filtration s'effectue après la centrifugation pour obtenir un hydrolat dénué de tout résidu de poudre. La figure ci-dessus représente le montage d'une filtration sous gravitation.

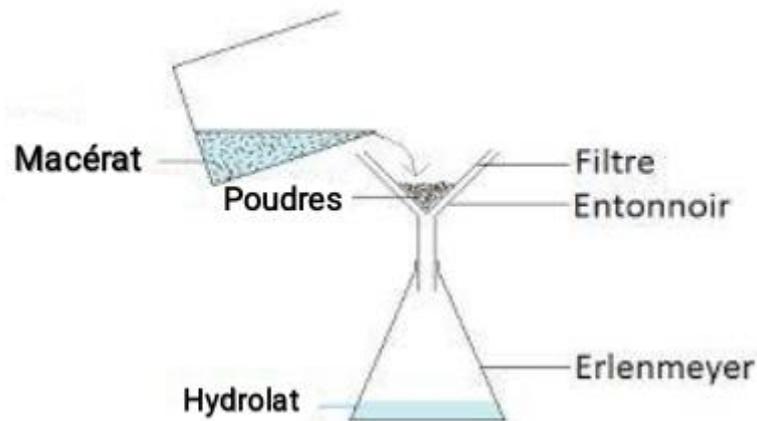


Figure 19 : Exemple d'une filtration

3.1.2 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°1 :

Ce protocole d'extraction a majoritairement suivi la méthode décrite par Okwu et Josiah, (2006). Par manque de moyens et d'équipements, des inconvénients ont été rencontrés lors de ce protocole ce qui nous ont obligés à prendre les mesures nécessaires.

Dans un Erlenmeyer, une prise d'essai de 20 g de poudre du fruit de *Sapindus Mukorossi*, a été dispersée dans 200 ml de solution à 20% d'éthanol, une première extraction a été réalisée dans un bain marie à 55°C sans rotation pendant 4 heures, après filtration, le résidu obtenu a subi une deuxième extraction avec 200 ml d'une solution d'éthanol à 20% qui a été filtré ensuite.

Les filtrats collectés ont été concentrés dans un chauffe ballon à 90 C° à défaut d'un bain marie. Le volume obtenu était de 150 ml au lieu de 40 ml comme indiqué dans la méthode.

La solution concentrée obtenue a été mélangée avec, non pas 20 ml mais 40 ml d'éther diéthylique, dans une ampoule à décanter, en agitant vigoureusement. Cette opération a été répétée trois fois, la phase aqueuse récupérée après décantation a subi une extraction avec 40 ml de n-butanol au lieu des 20 ml prévus par la méthode. L'opération qui a été répétée deux fois, la troisième extraction avec 40 ml n-butanol subira une opération de relargage en lavant deux fois l'ampoule à décanter avec 10 ml d'une solution de NaCl à 5%.

L'extrait butanolique obtenu a été ensuite évaporé à l'évaporateur rotatif à 80 C° et non dans un bain marie à 70 C°. L'évaporation étant lente principalement dû à la faible puissance de la pompe à vide, nous avons donc choisi de d'ajouter 200 ml d'heptane à l'extrait butanolique

pour faire abaisser sa température d'ébullition et permettre plus facilement son évaporation. L'évaporation du solvant terminé, la poudre devrait se trouver au fond du ballon.

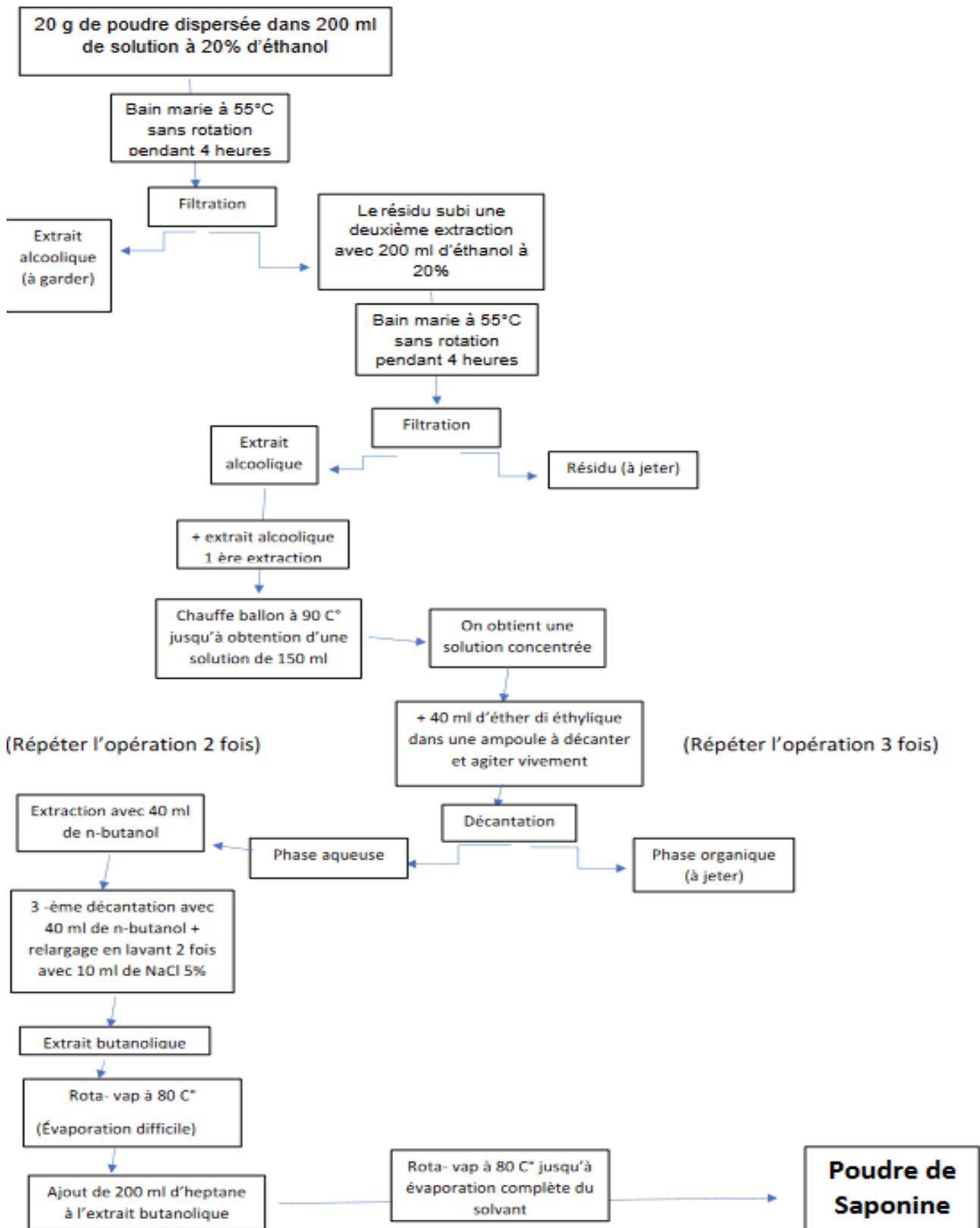


Figure20: Schéma du protocole d'extraction N°1

3.1.3 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°2 :

Ce protocole d'extraction a été fait selon la méthode décrite par

La poudre du fruit de *Sapindus Mukorossi* a été d'abord mélangé avec de l'éthanol à 80% suivant un ratio solide-liquide de 1 :20 (c'est-à-dire que pour chaque 1 gr de poudre on doit ajouter 20 ml d'éthanol). Dans notre cas, nous avons choisi mélanger 10 gr de poudre dans 200 ml d'éthanol.

La méthode d'extraction assistée par ultrasons a été choisi pour extraire la saponine. La puissance du bain à ultrasons doit être de 100 W ; la température du bain a été fixé à 75 C° et le temps d'extraction a duré 90 min.

La solution obtenue a été filtrée avec un papier filtre, puis le filtrat a été centrifugé avec une vitesse de 5000 tours/min pendant 10 min.

Le surnageant a été ensuite concentré grâce à un évaporateur rotatif et a été mis au réfrigérateur pour permettre à la saponine de cristalliser et ainsi de précipiter pour permettre sa récupération.

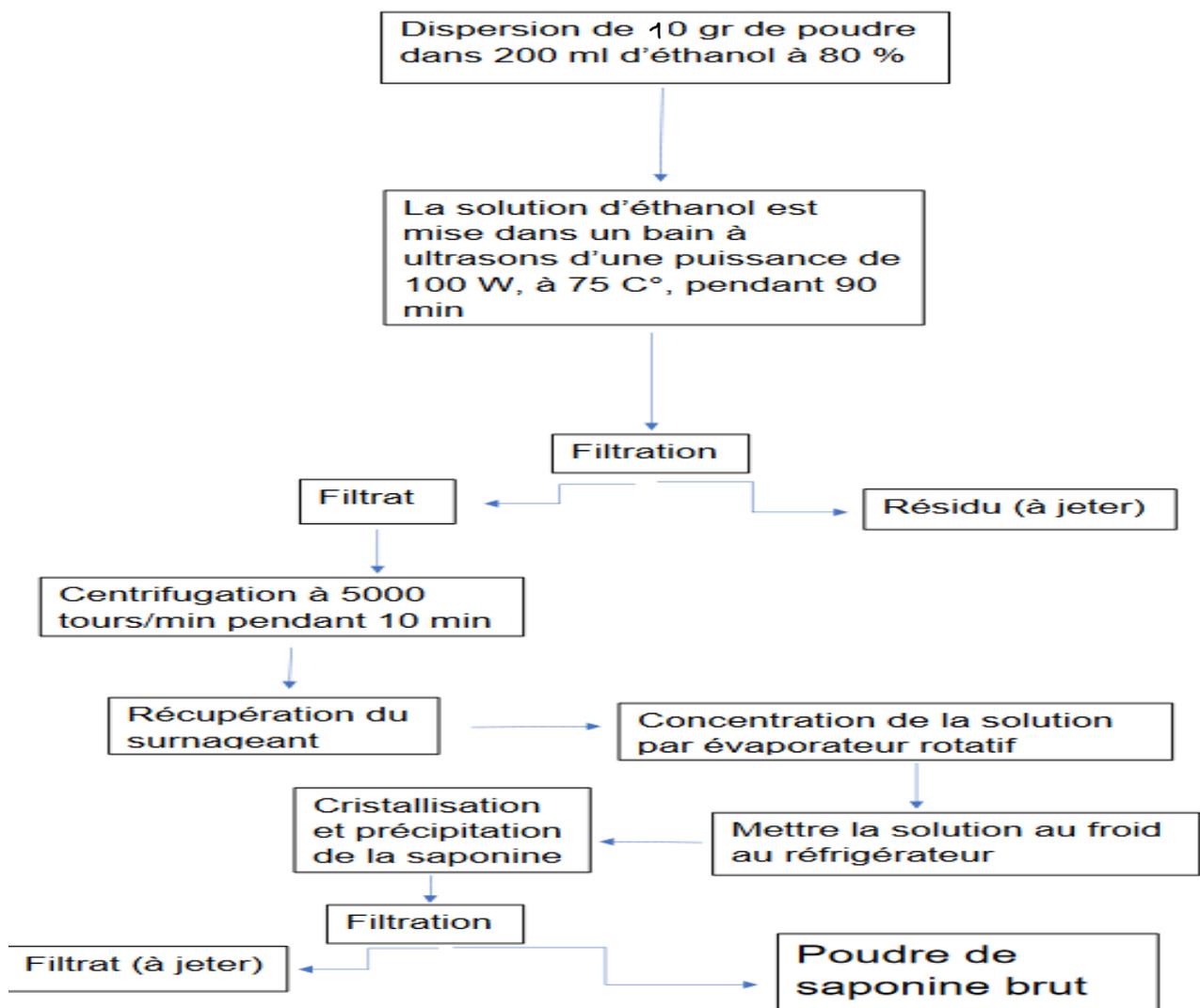


Figure 21 : Protocole d'extraction N°2

3.2 Caractérisation des hydrolats:

Dans le but de caractériser l'extrait préparé à partir, des analyses qualitatives ont été effectuées.

Cette analyse a été effectuée sur différentes concentrations de l'hydrolat obtenu par le protocole d'extraction par macération.

3.2.1 Spectrométrie UV-visible :

Méthode analytique qualitative qui consiste à mesurer l'absorbance ou la densité optique d'une substance chimique donnée en solution. Plus cette espèce est concentrée plus elle absorbe la lumière dans les limites de proportionnalités énoncées par la loi de Beer-Lambert. La densité optique des solutions est déterminée par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde d'absorption de l'espèce chimique à étudier.

➤ Mode opératoire :

Dans un premier temps nous procédons à des dilutions successives à partir de notre hydrolat à 10 % pour obtenir les concentrations suivantes : 1%, 0,8%, 0,4%, 0,1%, 0,08%, 0,04%, 0,01%, 0,008%, 0,004%, 0,001%.

Dans une cuve en Quartz de 1 cm de largeur, on introduit la solution à analyser, environ 1ml, après quelques minutes le spectre d'absorbance est lue au spectrophotomètre UV-visible Avant cette procédure on étalonne d'abord l'appareil par le blanc de chaque extrait, qui est dans notre cas l'eau distillée.

3.3 Détermination de la concentration micellaire critique (CMC) :

La propriété la plus intéressante des tensioactifs dans l'eau est certainement leur capacité à former des agrégats ordonnés à partir d'une certaine concentration limite appelée concentration micellaire critique.

Cette concentration micellaire critique (CMC) représente la concentration à partir de laquelle un composé tensioactif s'auto-associe sous forme de micelles en solution aqueuse. Les chaînes hydrophobes constituent le cœur de la micelle et les têtes polaires sont au contact de l'eau.

Sa valeur mesurée varie légèrement suivant la méthode retenue. Expérimentalement, la CMC est déterminée par une rupture de pente sur une courbe représentant la variation d'une propriété en fonction de la concentration en tensioactif.

3.3.1 Détermination de la CMC grâce à la tension superficielle :

➤ Mode opératoire :

Une lame en verre parfaitement propre d'épaisseur déterminé et de longueur constante est plongée dans une solution d'hydrolat de concentration donnée, obtenue par le protocole d'extraction par macération, afin de mesurer la force d'arrachement de la lame. Après quelque instants, le tensiomètre affiche la valeur de la tension superficielle. Nous avons procédé à des dilutions successives à partir de notre hydrolat à 10 % et avons préparé les concentrations suivantes : 0,8%, 0,4%, 0,1%, 0,08%, 0,04%, 0,01%, 0,008%, 0,004%, 0,001%.



Figure 22 : Tensiomètre

3.3.2 Détermination de la CMC grâce à la conductivité :

➤ Mode opératoire :

Nous avons commencé à préparer des solutions de concentration différentes par dilutions successives à partir de notre hydrolat à 10 % et avons préparé les concentrations suivantes : 1%, 0,8%, 0,4%, 0,1%, 0,08%, 0,04%, 0,01%, 0,008%, 0,004%, 0,001%. Nous avons ensuite mesuré leur conductivité à l'aide d'un conductimètre.

3.4 Analyse rhéologique :

➤ Préparation du gel :

Le gel est préparé en utilisant une concentration de 4 g/L de carbopol 980. Le polymère a été dispersé dans 25 ml d'un hydrolat de concentration donnée contenu dans un bécher et agitée à l'aide d'un agitateur magnétique. Après dissolution du polymère, quelques gouttes de triéthanolamine ont été soigneusement ajoutées tout en laissant agiter lentement pour éviter la formation de bulles d'air.

Nous avons préparé 4 gels en tout pour les analyses rhéologiques, voici un tableau résumant les quantités de carbopol et de triéthanolamine mise dans les différents gels préparé :

	Gel Eau distillée	Gel hydrolat 5%	Gel hydrolat 10%	Gel hydrolat 15 %
Quantité de Carbopol (gr)	0,13	0,13	0,13	0,13
Nombre de gouttes de triéthanolamine ajoutées	2	5	9	12 et plus

Tableau 2 : Formulation pour la préparation des différents gels

➤ Test d'écoulement :

Le but de cette manipulation est d'étudier le comportement viscoélastique des gels préparé, sous l'effet de contraintes de cisaillement. Ces caractérisations rhéologiques en cisaillement sont effectuées à l'aide du rhéomètre MCR 302 équipé d'une géométrie plan/plan de rayon R. Pour chaque gel, deux mesures ont été faites ; l'une mesurant l'évolution de la viscosité apparente en fonction de la contrainte [$\eta = f(\tau)$], et une autre mesurant l'évolution de la viscosité apparente en fonction gradient de cisaillement [$\eta = f(\dot{\gamma})$], La modélisation mathématique a été faites avec le logiciel STATISTICA.

3.5 Analyse microbiologique :

Les analyses microbiologiques ont été effectuée eu sein des laboratoires Biolab. Nous effectué un dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) ainsi que celui des levures et des moisissures (DMLT). Ce test est un test de routine qui permet de rechercher une quelconque contamination de l'échantillon ; comme nos gels n'ont pas été préparé dans des conditions d'aseptisation qui convient aux normes, leur contamination par un quelconque germe ne fait aucun doute. Dès lors ce test a pour but d'évaluer et de comparer l'activité microbienne (bactéries, levures et moisissure) d'un gel à base d'hydrolat de fruit de *Sapindus Mukorossi* de concentration 5% et d'un gel à blanc.

➤ Matériels utilisés :

- Pipettes pasteur
- Pipettes graduée stériles
- Boîte de Petri
- Gants
- Etuve à 35 C° et 22C°

➤ Milieux de culture utilisé :

- TSE + Tween 80
- Milieu TSB
- Milieu gélosé TSA pour le développement de bactéries
- Milieu gélosé Sabouraud Chloramphénicol pour le développement des levures et moisissures

➤ Protocole du DGAT et DMLT :

Un prélèvement, dans des conditions aseptiques, de 10 g a été effectué sur les deux gels à analyser. On procède à une dilution des échantillons au 1/10 dans une solution peptonée au Na Cl à pH 7.0, puis on homogénéise le tout. On dépose ensuite 1 ml de chaque échantillon préparé dans le fond d'une boîte de Petri, puis faire couler 20 ml de milieu gélosé (TSA pour le développement des bactéries et Sabouraud Chloramphénicol pour le développement des levures et moisissures) liquéfiés au préalable à 45 C°. La phase d'ensemencement terminée, les boîtes à 35 C° (pour les bactéries) et à 22 C° (pour les levures et moisissures) pendant 5 jours.

Une première lecture est faite après 48 h et après 5 jours ; les résultats sont exprimés en UFC/g.

Résultats Et Discussion

1. Résultats de l'extraction de poudre de saponines

1.1 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°1 :

Au vu des inconvénients rencontrés lors du protocole d'extraction décrit par Okwu et Josiah, (2006) [31], nous avons pris plusieurs mesures complémentaires et ce dans le but d'obtenir la poudre des saponines.

L'évaporation de l'extrait butanolique à 80 C° s'est révélé plus difficile et plus lente que prévu, notamment à cause de la faible puissance de la pompe, la température d'ébullition du butanol n'aidant pas aussi ($T=117\text{ C}^\circ$).

Nous avons donc décidé d'arrêter la procédure d'élimination du solvant et choisi un moyen d'abaisser la température d'ébullition du butanol pour faciliter ainsi son évaporation. C'est en lui ajoutant quelque 200 ml d'heptane qu'il formera un mélange azéotropique permettant ainsi l'évaporation du solvant à 80 C°.

A la fin de l'évaporation du mélange de solvant, on a obtenu sur tout le fond du ballon un précipité de couleur jaunâtre et d'odeur caramel, ce qui indique que les saponines se sont malheureusement caramélisées.

Cette caramélisation est due à la thermo-sensibilité des saponines qu'on veut extraire, à noter que les saponines sont des hétérosides qui se caramélisent à partir d'une température qui se situe entre 40 et 50°C, néanmoins on peut considérer la formation du caramel ainsi que sa couleur jaunâtre, qui est celle décrite dans la littérature, comme une ultime confirmation quant à la présence de saponines.



Figure 23 : Evaporation du solvant à l'aide d'un évaporateur rotatif

1.2 Protocole d'extraction de poudre de saponine N°2 :

Devant la difficulté d'extraire de la saponine brute par le protocole d'extraction N°1, nous avons choisi de changer de protocole d'extraction. Nous avons choisi ce protocole puisqu'il est plus facile à mettre en place et est moins gourmand en temps. Cependant certains problèmes ont été rencontrés lors de ce protocole.

Pendant la phase d'extraction assistée par ultrasons, la température du bac à ultrasons augmentait très lentement et était limité à 60 C°, il ne pouvait donc atteindre les 75 C° stipulé dans la méthode.

Après filtration et centrifugation de l'extrait ainsi que sa concentration à l'évaporateur rotatif, nous avons rencontré une difficulté dans le refroidissement de l'extrait pour faire cristalliser la saponine contenue à l'intérieur. En effet en raison des conditions défavorables de saison (températures saisonnières élevées 30°C) ainsi que la vétusté des réfrigérateurs disponible, le phénomène de cristallisation n'a pu être observé que quelques instants comme nous le voyons sur la figure, ce qui ne laisse naturellement pas de temps pour une filtration.



Figure 24 : Cristallisation de saponine

2. Détermination de la CMC :

2.1 Détermination de la CMC par le suivi de la tension superficielle :

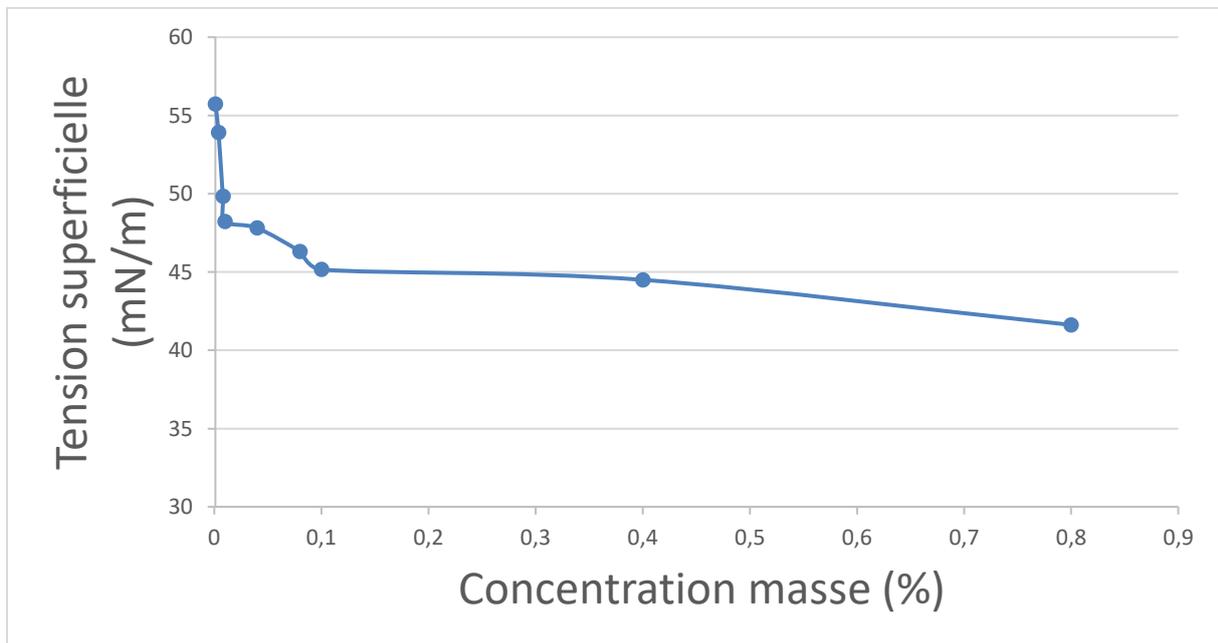


Figure 25 : Courbe de la variation de la tension superficielle en fonction de la concentration des solutions en extraits de de fruit de Sapindus Mukorossi

La détermination de la CMC par la tension superficielle s'est révélée impossible car on manque de matière active pure. Il nous reste alors à identifier l'hydrolat le plus actif c'est à dire celui avec lequel on arrive à réduire le plus la tension superficielle de l'eau.

2.2 Détermination de la CMC avec la conductivité :

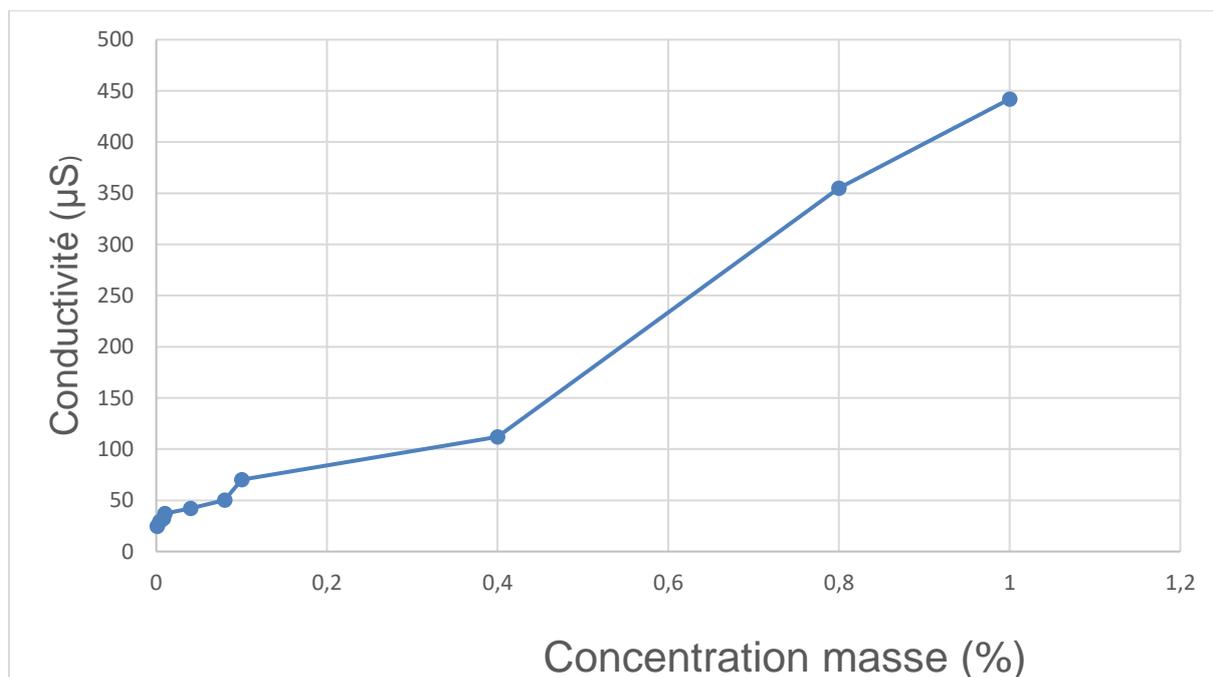


Figure 26 : Courbe de la variation de la conductivité en fonction de la concentration des solutions en extraits de de fruit de Sapindus Mukorossi

La CMC a été établie en traçant deux tangentes ; nous estimons qu'elle est environ égale à 0,38 %. Cette valeur coïncide avec celle indiquée à l'aide de la tensiométrie (figure 25).

3. Résultats de caractérisation des saponines :

3.1 Spectrométrie UV-visible :

La caractérisation des saponines par spectroscopie UV-visible a été faite sur plusieurs concentrations. Dans la littérature, les saponines absorbent généralement autour de 200 -300 nm [32]. Les spectres d'absorption ont été obtenus par un balayage spectral entre 200 et 400 nm. Les spectres obtenus ne nous ont pas donné satisfaction comme nous le voyons sur la figure 28, en effet parmi toutes les concentrations testées aucun des spectres obtenus n'a donné un pic apparent et ce malgré nos multiples essais.

Comme le montre la figure 27 reportée dans les travaux publiés par Chuanxun Yuan et coll, les saponines généralement possèdent un pic avec un maximum à environ 215 nm, qui était similaire à d'autres rapports

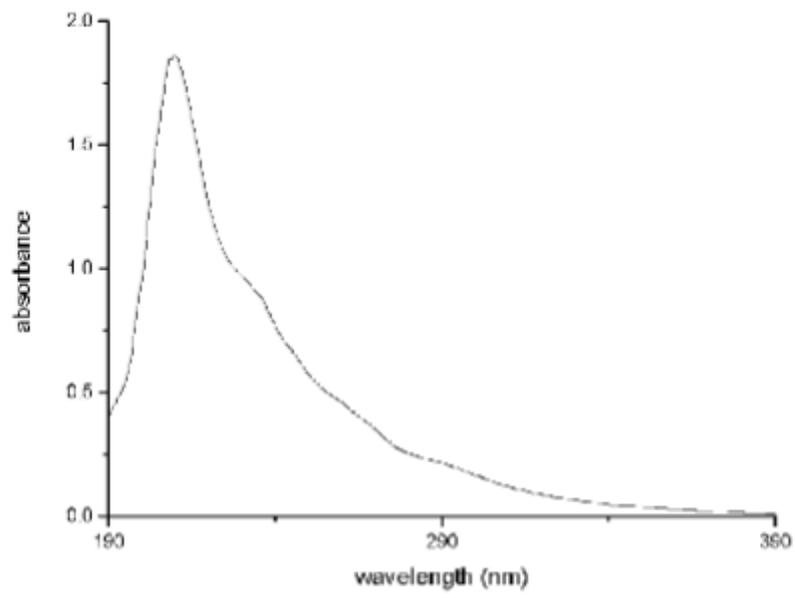


Figure 27 : Spectre d'absorption typique d'une molécule de saponine

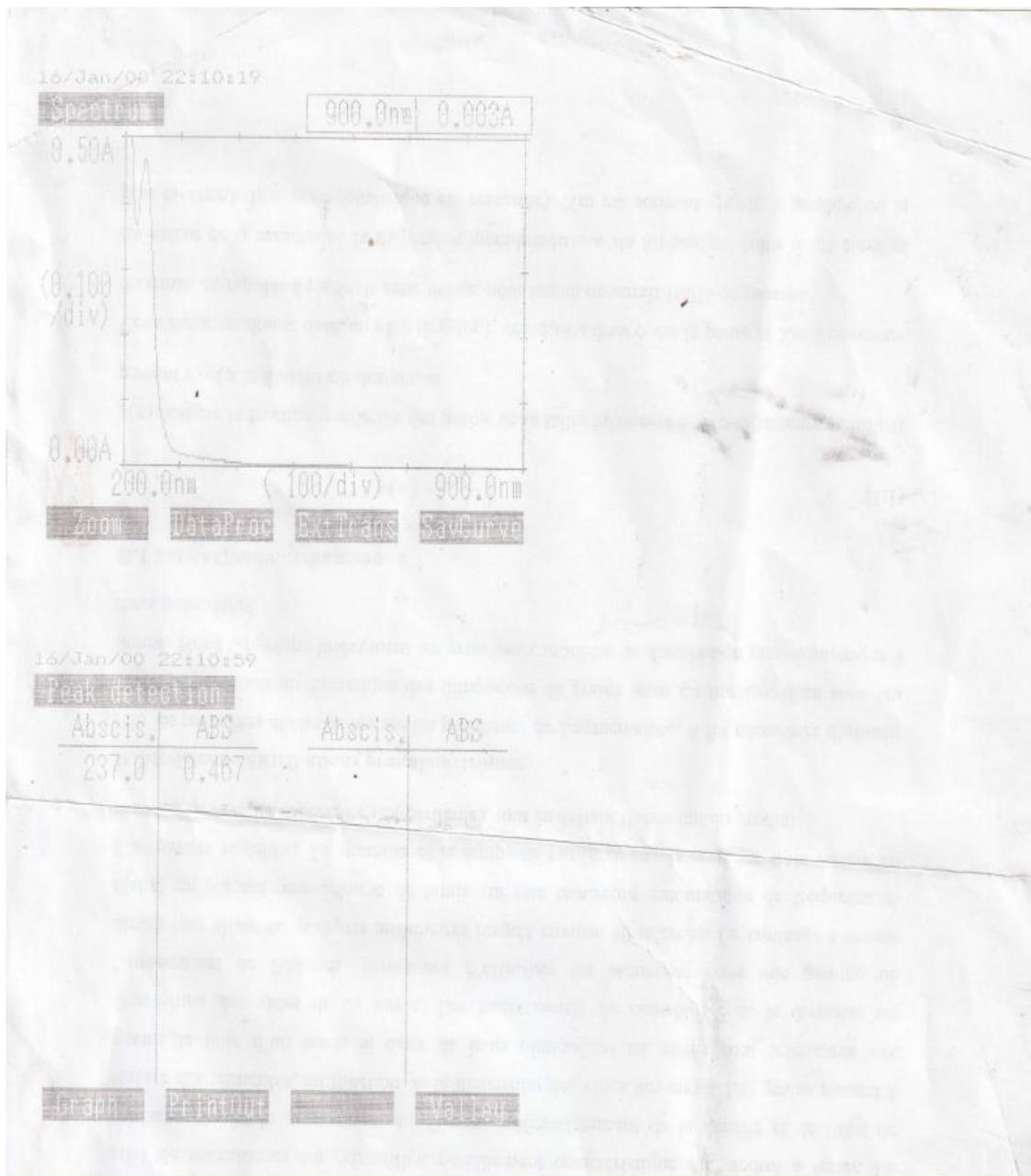


Figure 28 : Exemple de spectre d'absorption obtenu lors de l'analyse UV-visible

4. Résultats de l'analyse rhéologique :

Les mesures rhéologiques ont été effectuées à l'aide d'un rhéomètre à contrainte imposée (ANTON PAAR PHYSICA RHEOLAB MCR 302) équipé d'un système de régulation thermique à effet Peltier. La géométrie de mesure utilisée est de type conique cône - plan CP 60-1/TG.



Figure29 : Rhéomètre ANTON PAAR PHYSICA RHEOLAB MCR 302

4.1. Méthodes de caractérisation :

Nous avons préparé plusieurs tests pour caractériser le comportement rhéologique des textures préparées. A commencer par les textures de référence exemptes d'hydrolats puis celles préparés à base des hydrolats à 5, 10 et 15% de matière première.

Les tests réalisés sont des tests d'écoulement qui permettent une mesure macroscopique de la force nécessaire pour vaincre les résistances à l'écoulement et ainsi évaluer la stabilité et la facilité de prise au moment de l'emploi. Alors, tous les éléments obtenus lors de cette étude permettent de cerner le domaine de variation auquel les essais présentent un comportement rhéologique intéressant.

Pour l'obtention des courbes d'écoulement, on fait varier la vitesse de cisaillement par pas logarithmique de 0,001 à 1000 s⁻¹, avec un nombre de point de mesure de 30, et un temps de mesure pour deux points successifs variable, équivalent au temps d'équilibre auquel la viscosité enregistre un palier.

Evolution de la viscosité apparente en fonction
du gradient de cisaillement pour différents gels à base
d'hydrolats (0 et 5%)

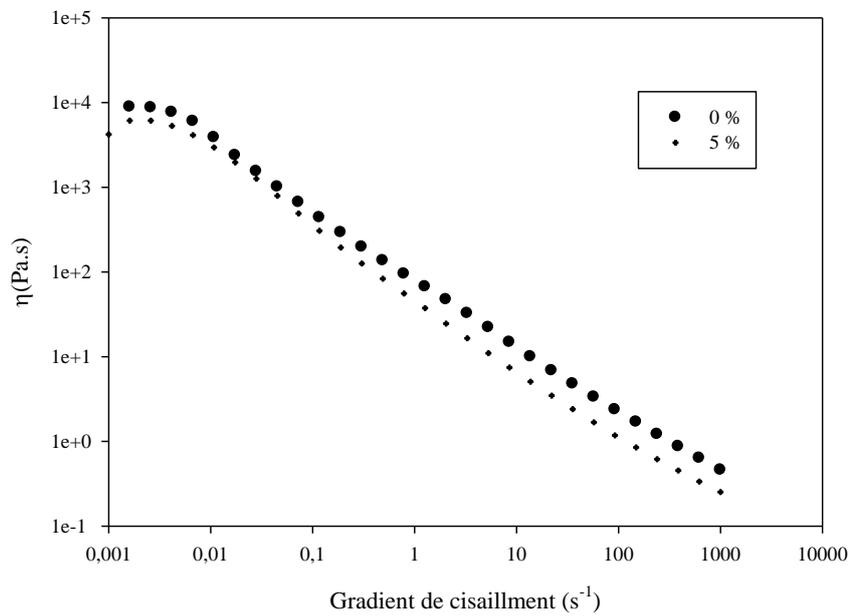


Figure 30: Evolution de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement pour des gels à base d'hydrolats (0 et 5%)

Des régimes d'écoulement en régime continu sous cisaillement variable se traduisant par la viscosité apparente η (en Pa.s) en fonction de la vitesse de cisaillement.

Evolution de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement pour différents gels à base d'hydrolats (5 , 10 et 15%)

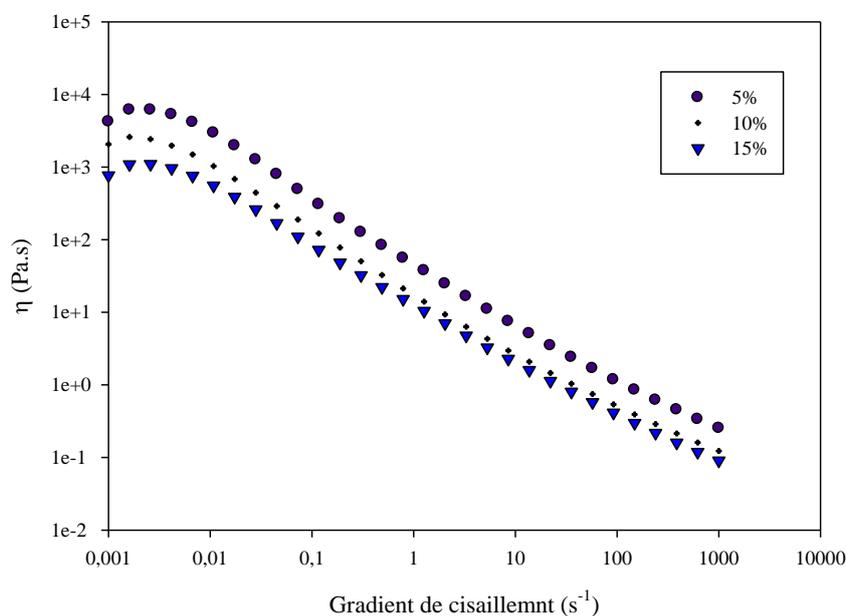


Figure 31 : Evolution de la viscosité apparente en fonction du gradient de cisaillement pour des gels a base d' hydrolats (5% et 10, 15%)

4.2.Modélisation des courbes d'écoulement :

Les rhéogrammes issus du test d'écoulement sont modélisées par un modèle mathématique qui décrit le comportement rhéologique des gels à 0%, 5% , 10% et 15% à l'aide d'un logiciel "statistica" qui offre une multitude de technique de méthodes d'optimisation non linéaires se basant sur un calcul.

Le modèle de Cross est le modèle qui convient le mieux au comportement de nos échantillons

Ce modèle tient compte des limites de comportement rhéologique. Aux faibles contraintes de cisaillement, on observe généralement un comportement newtonien, avec un plateau de viscosité à cisaillement nul et désigné par : " η_0 ".

4.2.1Résumé des résultats:

Gel	η_0 (Pa.s)	η_∞ (Pa.s)	k	n	R

0%	9161,10	0,190	ND	ND	ND
5%	7682,96	0,195	254,3579	0,906945	0,9516
10%	3897,39	0,102	387,7846	0,888299	0,9709
15%	1396,07	0,062	238,9416	0,844045	0,9575

Tableau 3 : Résultats du Modélisation des courbes d'écoulement_

ND : non déterminé

Un comportement rhéofluidifiant est observé pour toutes les textures élaborées. Ainsi, à faibles vitesses de cisaillement un plateau newtonien est observé. Une diminution de la viscosité (comportement rhéofluidifiant) s'ensuit où la viscosité décroît linéairement avec des pentes caractéristiques.

Modélisation à l'aide du modèle de Cross

Avec :

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{1 + (K\dot{\gamma})^p}$$

η : viscosité apparente

η_0 : viscosité pour un taux de cisaillement nul

η : asymptote viscosité pour un taux de cisaillement très élevé

$\dot{\gamma}$: vitesse de cisaillement

K et p sont des constantes propres aux fluides et définissant la forme de la courbe $\eta=f(\dot{\gamma})$

4.3.Caractérisation rhéologique

Les figures (1) illustrent l'évolution de la viscosité dynamique et la contrainte du complexe en fonction de la vitesse de cisaillement en absence et en présence de l'extrait des fruits de sapindus à T=20°C. Alors que la seconde figure regroupe l'évolution de la viscosité et la contrainte en présence des extraits à 5, 10 et 15%.

Courbe d'écoulement 0 et 5% hydrolat

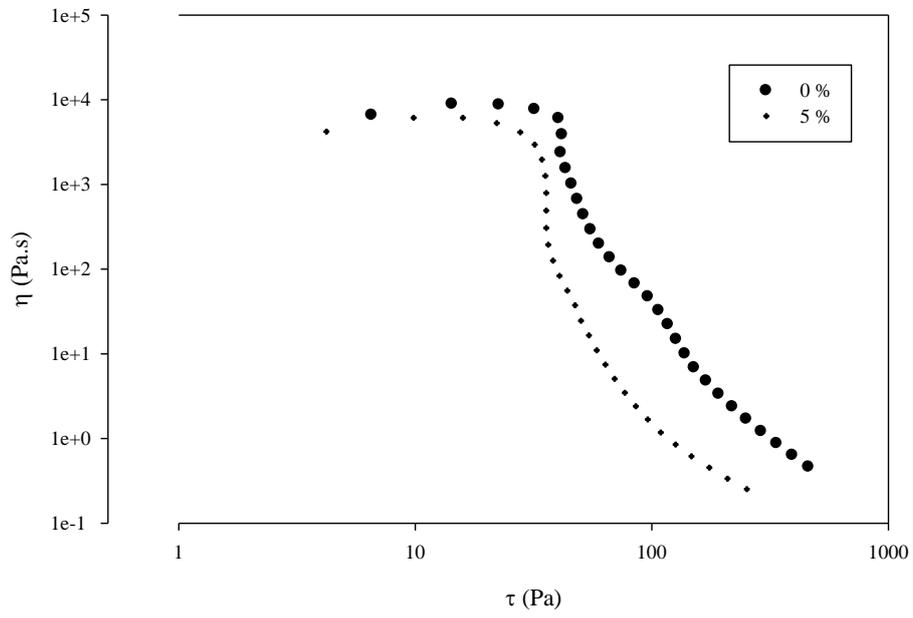


Figure 32 : Courbe d'écoulement 0 et 5% hydrolat

Courbes d'écoulement des gels à base d'hydrolats (5 , 10 et 15%)

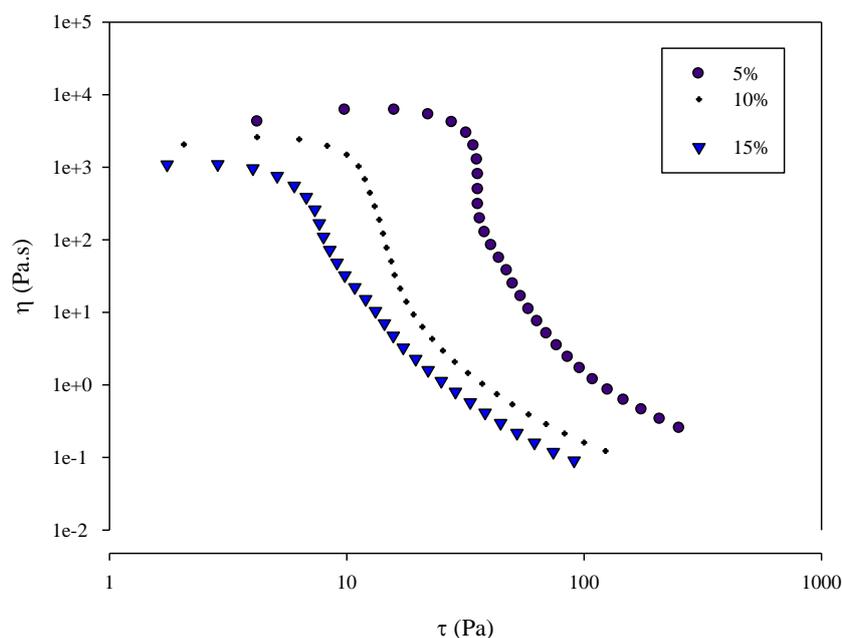


Figure 33 : Courbes d'écoulement des gels a base d'hydrolat (5, 10 et 15%)

4.3.1 .Résumé des résultats :

Gel	η_0 (Pa.s)	η_∞ (Pa.s)	τ_0 (Pa)
0%	9161,10	0.190	28,221
5%	7682,96	0,195	ND
10%	3897,39	0,102	ND
15%	1396,07	0,062	ND

Tableau 4 : Résultats du Caractérisation rhéologique

4.4.Conclusion :

Les tests rhéologiques ont montré, à travers les rhéogrammes, que le modèle de Cross était le plus adéquat et le plus expressif pour nos résultats. Les résultats de la modélisation obtenus étaient satisfaisants au regard des coefficients de corrélation R qui est supérieur à 90%. Il a été prouvé que les trois textures ont un comportement rhéofluidifiant dans l'intégralité de l'intervalle de vitesse de cisaillement. Trois régions ont été identifiées, un premier plateau newtonien à faible vitesse de cisaillement, une région rhéofluidifiante à des vitesses intermédiaires et enfin une région se rapprochant du comportement newtonien.

Les viscosités à cisaillement nul ont été calculées par le modèle de Cross et il a été montré que ces dernières diminuaient avec la concentration de la matière première admise dans l'hydrolat suite à la macération.

5. Résultats de l'analyse microbiologique :

Comme le stipule le protocole, un dénombrement des colonies à été fait après 48h et après 5 jours, les résultats obtenus ont été consignés dans le tableau ci-dessous :

	Gel à blanc	Gel hydrolat 5%
DGAT après 48 h	1020 UFC/ml	655 UFC/ml
DGAT après 5 jours	1455 UFC/ml	800 UFC/ml
DMLT après 48 h	3300 UFC/ml (Présence de moisissures)	4760 UFC/ml (Absence totale de moisissures)
DMLT après 5 jours	Indénombrable (Présence de moisissures)	Indénombrable (Absence totale de moisissures)

Tableau 5 : Résultats du DGAT et du DMLT

Au premier abord on remarque que le DGAT après 48 h du gel hydrolat 5% est presque 2 fois inférieur à celui du gel à blanc, sachant que les gels ont été préparé dans les mêmes conditions, il en ressort que le gel hydrolat 5% possède relativement une propriété antimicrobienne. Cette hypothèse est renforcée par la DGAT après 5 jours car le nombre de colonies du gel hydrolat 5% reste toujours approximativement 2 fois moins que celui du gel à



Figure 34 : Culture de bactéries en présence du gel à blanc (à gauche) ; Culture de bactéries en présence de gel hydrolat 5% (à droite)

blanc. La propriété antimicrobienne du gel hydrolat 5% s'exprime par une certaine inhibition ou ralentissement

du développement des germes, il en résulte de petites colonies difficilement repérables, contrairement aux colonies clairement apparente du gel à blanc, comme nous le voyons sur la figure.

Concernant le DMLT, après 48 h nous constatons que le nombre de colonies de levures dans le gel à blanc et le gel hydrolat 5% est sensiblement le même, sauf que le gel hydrolat 5% ne possède aucune trace de moisissures contrairement au gel à blanc ; cela révèle donc une potentielle propriété anti-moisissures. Le DMLT après 5 jours s'est révélé impossible de par un nombre trop important de colonies de levures, néanmoins le gel hydrolat 5% a encore présenté une absence totale d'une quelconque trace de moisissures, ce qui prouve une action claire de ce gel à base de fruit de *Sapindus Mukorossi* contre les moisissures. Cependant le gel est inefficace contre les levures, comme nous le voyons sur la figure :

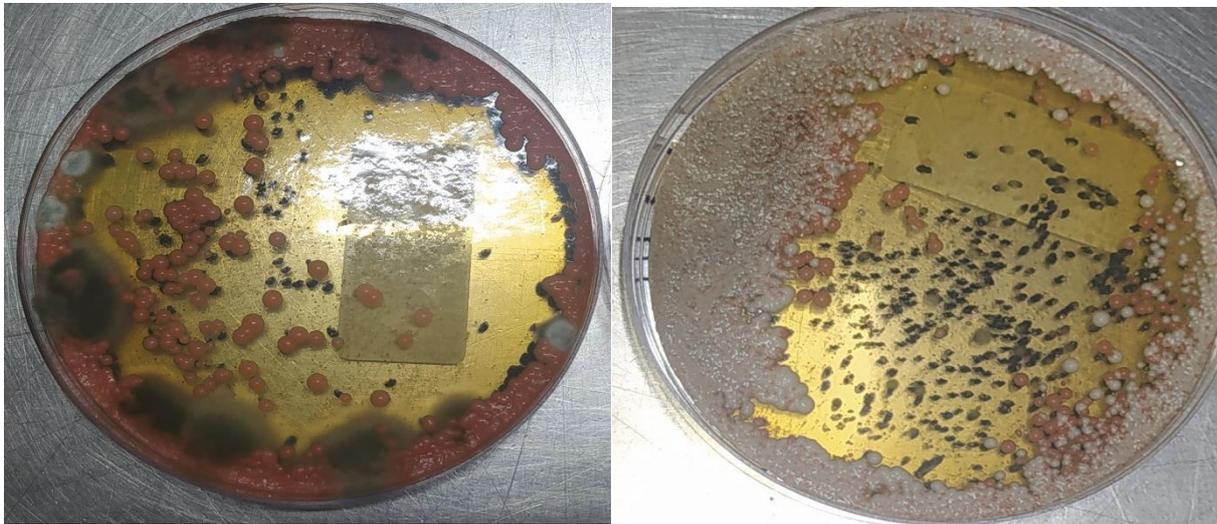


Figure 35 : Culture de levures et moisissures en présence du gel à blanc (à gauche) ; Culture de levures et moisissures en présence de gel hydrolat 5% (à droite)

A l'issue de cette expérience, le gel hydrolat 5% à base du fruit de *Sapindus Mukorossi* dont l'un de son composant majoritaire est la saponine, s'est révélé avoir une certaine activité antimicrobienne ainsi qu'une propriété clairement anti-moisissures.

CONCLUSION

Conclusion :

La finalité de notre projet était la valorisation des extraits du fruit de *Sapindus mukorossi*, qui

se sont révélés avoir plusieurs domaines potentiels d'utilisations notamment sous forme de gel, à partir d'une matière végétale commune en Algérie. Cette matière, connue pour sa richesse en saponines a été aussi utilisée dans le cadre de différents protocoles d'extraction qui ont pour but d'obtenir une poudre de saponine brute.

A l'issue de cette étude, les résultats obtenus ont pu être résumés dans les points suivants :

- Les extraits de fruit de *Sapindus mukorossi* ont montré leur richesse en saponines de par les tests physico-chimiques notamment la tensiométrie, qui montre notamment l'activité interfaciale exceptionnelle de ce tensioactif naturel.

- Nos tentatives d'extraction de poudre de saponines brute ont montré toute la difficulté d'extraction d'un principe actif d'une matière végétale, il faut en effet prendre en compte plusieurs paramètres lors de l'extraction notamment la température ainsi que le solvant d'extraction pour s'assurer de la réussite de l'extraction et la maximisation du rendement

- Les tests rhéologiques ont montré clairement que tous les gels préparés à partir de différentes concentrations d'hydrolats ont un comportement rhéofluidifiant, néanmoins la contrainte seuil diminue plus la concentration augmente. Les tests rhéologiques ont montré que le modèle de Cross s'est révélé être le modèle adéquat et que la viscosité à cisaillement nul diminue plus la concentration en hydrolat augmente.

- Les tests microbiologiques ont montré que les extraits de fruit de *Sapindus mukorossi* possèdent une étonnante activité microbiologique ; en effet les extraits de fruit de *Sapindus Mukorossi* ont une propriété anti-microbienne qui s'exprime par un ralentissement ou une inhibition du développement des germes. Concernant les levures et moisissures, les extraits de fruit de *Sapindus Mukorossi* ont clairement eu un effet sur les moisissures qui ne se sont aucunement développées en présence du gel hydrolat 5%, le gel hydrolat a néanmoins laissé les levures proliférer.

Les résultats de ses recherches ont donc permis la valorisation des extraits du fruit de *Sapindus Mukorossi* et démontré leurs potentiels domaines d'applications.

Comme toutes recherches préliminaires, cette étude ouvre des perspectives pour la continuité des travaux, quelques recommandations sont à prescrire :

- Etudier la composition des autres parties de l'arbre de *Sapindus Mukorossi* pour trouver la partie contenant le plus de saponine
- Optimiser les techniques d'extraction en choisissant un meilleur solvant et en utilisant de meilleurs équipements
- Comparer les paramètres physico-chimique des extraits obtenu par macération et des solutions préparé avec de la saponine brute préalablement extraite

Liste des references:

- 1- <https://archive.wikiwix.com/cache/index2.php?url=http%3A%2F%2Fwww.ceuxdebougie.com%2F06-CHRON%2F6.2.28.html#federation=archive.wikiwix.com>
- 2- Ewen C.D. Todd et al., "Outbreaks Where Food Workers Have Been Implicated in the Spread of Foodborne Disease. Part 10. AlcoholBased Antiseptics for Hand Disinfection and a Comparison of Their Effectiveness with Soaps," *Journal of Food Protection* 73, no. 11 (2010): 2128–40, accessed March 9, 2015
- 3- Wollenberg A et al. Consensus-based European guidelines for treatment of atopic eczema (atopic dermatitis) in adults and children. *J Eur Acad Dermatol Venerol.* 2018; 32 (5) : 657-682.
- 4- <https://la-cuisine-mol.ovh/La-gelification>
- 5- <https://www.aquaportail.com/definition-821-gelifiant.html>
- 6- <https://www.techniques-ingenieur.fr/base-documentaire/procedeschimie-bio-agro-th2/cosmetiques-ingredients-42664210/formulationdes-polymeres-synthetiques-en-cosmetique-j2190/>
- 7- UNIVERSITE NICE SOPHIA-ANTIPOLIS - UFR SCIENCES Audrey Kerdudo OPTIMISATION DE LA CONSERVATION DES COSMETIQUES IMPACT DE LA FORMULATION, RECHERCHE DE NOUVEAUX CONSERVATEURS NATURELS, ENCAPSULATION (2014)
- 8- SAPINDUS TRIFOLIATUS: A REVIEW *Dr. G. Hari Jagannadha Rao, P.Lakshmi 1Department of Pharmacology, NRI Medical College, Chinakakani, Mangalagiri (Mandal), Guntur District.
- 9- MADINIER, Isabelle GÉRIBALDI Mireille, WIPO Patent Application WO/2010/072923
- 10- Jean Bruneton. (2009). *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Lavoisier. 4^{éd.} 1292 pages
- 11- Bruneton, J., "Pharmacognosie. Phytochimie des plantes médicinales", *Technique et Documentation Lavoisier*, Paris, 2^{ème} Ed, (1999), 915 p
- 12- Deore S. L., Khadabadi S. S., K.P.Chittam, P. G. Bhujade, T. P. Wane, Y. R. Nagpur Kar, P. D. Chanekar, R. G. Jain, « Proprieties and pharmacological applications of saponins. » *Pharmacologyonline* 2 (2009), pp 61-84.
- 13- ETUDE MULTI-ECHELLE DE LA STRUCTURATION DE COPOLYMERES CATIONIQUES EN PEIGNE UNIVERSITE DU MAINE Faculté des Sciences Wissam MOUSSA (2010)
- 14- Sparg, S.G., Light, M.E., and van Staden, J. « Biological activities and distribution of plant saponins. » *J. Ethnopharmacol* (2004), 94:219–243
- 15- Eskandar Moghimipour and Somayeh Handali, « Saponin: Properties, Method of Evaluation and Applications. » *Annual Research & Review in Biology* 5(3): 207-220, 2015
- 16- Université Blida 1 MEMOIRE DE MASTER PROFESSIONNEL KADI Souad Valorisation des extraits des fruits de l'arbre Sapindus Mukorossi dans la formulation d'un bain de bouche (2014)
- 17- Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou ETUDE DES PROPRIETES EMULSIFIANTES DE TENSIOACTIFS ANIONIQUES POUR UNE APPLICATION EN COSMETIQUE Nabil Mouloud BABI 2016
- 18- Mittal K.L., *Micellization, solubilization and microemulsion*, vol.2, Plenum Press Ed., (1998).
- 19- UNIVERSITE D'ANTANANARIVO CONTRIBUTION A L'ETUDE CHIMIQUE DES FRUITS ANTIMICROBIENS DE Sapindus trifoliatum (Sapindaceae) RABEARIVELO Tovo Hery Toky Bienvenu (2018)

- 20- Doctorat de l'université de toulouse l'Institut National Polytechnique de Toulouse
Caroline RONDEL (2009) Synthèses et propriétés de mélanges de nouvelles molécules polyfonctionnelles lipopeptidiques tensioactives 21-Fakruddi, J Pet Environ Biotechnol 2012, 3:4
- 21- Mohan PK, Nakhla G, Yanful EK (2006) Biokinetics of biodegradation of surfactants under aerobic, anoxic and anaerobic conditions. *Water Res* 40: 533-540.
- 22- . Kosaric N (2001) Biosurfactants and their Applications for Soil Bioremediation *Food Technol Biotechnol* 39: 295-304]
- 23- -Krishnaswamy M, Subbuchettiar G, Ravi TK, Panchaksharam S (2008) Biosurfactants properties, commercial production and application. *Current Science* 94: 736-747.]
- 24- Zhang S, Hu Z (1985) Anti-ulcerogenic effects of Ginseng flower saponins in the rat *ZhongyaoTongbao* 10: 331. *Chem Abstr*
- 25- Marie Herbillon. Le quinoa : intérêt nutritionnel et perspectives pharmaceutiques. *Sciences pharmaceutiques*. 2015
- 26- Cowan, M.M. (1999) Plant Products as Antimicrobial Agents. *Clinical Microbiology Reviews*, 12, 564-582.
- 27- Bagstad, K. J., F. Villa, D. Batker, J. Harrison-Cox, B. Voigt, and G. W. Johnson. 2014. From theoretical to actual ecosystem services: mapping beneficiaries and spatial flows in ecosystem service assessments. *Ecology and Society* 19(2): 64
- 28- Woldemichael, G.M. and Wink, M. (2001) Identification and Biological Activities of Triterpenoid Saponins from *Chenopodium quinoa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 2327-2332.
- 29- Xu X-H, Li T, Fong CMV, Chen X, Chen X-J, Wang Y-T, Huang M-Q, Lu J-J. Saponins from Chinese Medicines as Anticancer Agents. *Molecules*. 2016; 21(10):1326
- 30- Okwu, D.E. and Josiah, C. (2006) Evaluation of the Chemical Composition of Two Nigerian Medicinal Plants. *African Journal of Biotechnology*, 5, 357-336.
- 31- Chuanxun Yuan, Yan Li, Qingchuan Li, Risheng Jin, Lili Ren; Purification of Tea saponins and Evaluation of its Effect on Alcohol Dehydrogenase Activity, *Open Life Sci*. 2018; 13: 56–6