

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université SAAD DAHLEB de Blida

Faculté de Technologie

Département de Génie Des Procédés



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme

De master en pharmacie industrielle

Contribution à la formulation d'un gel à usage dermatique
par incorporation d'un surfactant naturel extrait des fruits
du *SapindusMukorossi*

Proposé et dirigé par :

Pr. A. HADJ ZIANE-ZAFOUR

Mme D. Youcefi

Réalisé par :

-ATTAFENE Bouchra

-MABED Maria Djihane

Promotion : Octobre 2015

Résumé

Au cours de ce travail, on a procédé à l'extraction de substances bioactives des fruits du *Sapindusmukorossi* par la méthode de macération. La caractérisation de l'extrait en tant que biosurfactant par des méthodes physico-chimiques (Concentration micellaire critique, pouvoir moussant, pouvoir émulsifiant, tension superficielle) a montré que ce dernier est similaire à ceux commerciaux.

Par caractérisation microbiologique, l'extrait riche en saponines s'est révélé efficace en tant qu'antifongique contre le *Candida Albicans* et en tant qu'un antibactérien contre le *MicrococcusLutéus*, ce qui a conféré au gel formulé de bonnes propriétés thérapeutiques.

Mots clés : *Sapindusmukorossi*, antifongique, antibactérien, saponines, gel.

Summary

Duringthiswork, weproceeded to the extraction of bioactive substances of the fruits of *SapindusMukorossi* by macerationmethod. Characterization of the extractas biosurfactant by physico-chemicalmethods (criticalmicellar concentration, foaming, emulsifying power, surface tension),has shownthatitissimilar to thosecommercial.

By microbiologicalcharacterization,the extract, rich in saponins, proved to be effective as antifungalagainst *Candida Albicans*, and as an antibacterialagainst*MicrococcusLuteus*,which gave the formulated gel a good therapeuticproperties.

Key words: *Sapindusmukorossi*, antifungal, antibacterial, saponins, gel.

ملخص

خلال هذا العمل، قمنا باستخراج المواد النشطة من ثمار شجرة الصابون نيأسلوب التعطن.
توصيف المستخرج جعلنا نعلمنا خفض التوتر السطحي للطرق الفيزيوكيميائية
(التركيز المذيلي الحرج، قوة الإزغاء، قوة الإستحلاب، التوتر السطحي)، وقد أظهرنا أهميات للتجاري
بالتوصيف الميكروبيولوجي، ثبت أن المستخرج الغني بالصابون ينفع كمضاد ضد
"المبيضات البيضاء"، وكمضاد للجراثيم ضد "المكبريات الصفراء"
مما أعطاه لاهل المصنوع خصائص علاجية جيدة
الكلمات الرئيسية: شجرة الصابون، مضاد للفطريات، مضاد للجراثيم، الصابونين، هلام

DEDICACES DE MABED MARIA DJIHANE

Je dédie ce travail de fin d'études à :

Mes très chers parents :

Pour leurs aides et encouragements tout au long de mes études, qu'ils trouvent ici une sincère expression de ma considération et de mon respect

*Ma sœur « **Rayane Maïssa** » et mon frère « **Abdelbasset** »*

Que la vie leurs donne tout ce qu'elle a de meilleur.

Mes grands-parents :

Pour leurs encouragements et leurs soutiens

Mes oncles et mes tantes :

Qui ont contribué de près ou de loin à ma formation

A toute ma famille et à mes chères amies qui j'ai connues.

REMERCIEMENTS

Nous remercions ALLAH tout puissant de nous avoir donné la santé et guidé vers la connaissance et le savoir.

Ce travail a été réalisé en grande partie dans le laboratoire de Génie Chimique au département de Génie Des Procédés à l'Université Saad DAHLAB de Blida

*De prime abord, Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance et nos vifs remerciements à **Mme HADJ-ZIANE-Zafour Amel**, Professeur à l'université de Blida pour avoir encadré patiemment ce travail, pour ses précieuses remarques constructives et son suivi pour mener à terme ce travail.*

*Nous remercions également notre co-promotrice Mme **YOUCEFI Djamila**, Doctorante au sein du laboratoire de Génie Chimique qui nous a bien orienté et guidé dans la partie pratique et pour les conseils précieux qu'elle n'a cessé de nous prodiguer.*

*Nos chaleureux remerciements vont à monsieur **MOULA Kamel** pour nous avoir bien accueilli dans ses laboratoires **Venus SAPECO** afin qu'on puisse réaliser le fruit de notre travail et de formuler notre gel à base de l'extrait brut du *SapindusMukorossi*. Veuillez trouver ici l'expression de notre profonde gratitude.*

*Nous ne pourrions remercier jamais assez Monsieur **KEZAL Salim** responsable du laboratoire d'assurance qualité à l'**institut PASTEUR Dely-Brahim** d'avoir accepté de nous accueillir dans son laboratoire afin qu'on puisse tester l'efficacité de notre produit et mesurer son activité microbiologique. Nos vifs remerciements vont également à madame **TAHAR DJABBAR Khadidja** pour son accueil chaleureux à l'**institut PASTEUR Dely-Brahim**, pour son suivi et ses précieux conseils durant notre stage, pour sa disponibilité et sa gentillesse. Veuillez trouver ici l'expression de notre reconnaissance et gratitude.*

Mes remerciements vont également à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, et notamment à :

*La femme de mon oncle Madame **ALOUACHE MOUNIA** pour son aide, ses précieux conseils et son soutien*

*A Monsieur **HADJ-SADOK AbdElkader**, enseignant au département de génie des procédés pour sa bonne humeur, sa disponibilité et ses précieuses réponses à nos questions de rhéologie.*

Résumé.....	
<i>Les tableaux et les figures</i>	
<i>Introduction</i>	<i>1</i>

PARTIE THEORIQUE

Chapitre 1 : Etudes bibliographiques sur la plante

1. Présentation de la plante.....	3
1. Origine de la plante	3
2. Les saponines	3
1. Définition.....	3
2. Répartition et localisation.....	3
3. Structures et classifications.....	4
a) Saponines stéroïdique.....	4
b) Saponine triterpénique	4
4. Les caractéristiques de la plante	5
A. Caractéristiques chimiques	5
B. Caractéristiques physico-chimiques	9
C. Caractéristiques biologiques	10

Chapitre 2 : L'extraction

1. Méthodes d'extraction conventionnelles.....	16
1. L'extraction par macération	16
2. extraction par reflux et Soxhlet	17
3. Extraction ultérieure	17
2. Technologies d'extraction verte	17
1. Extraction assistée par ultrasons (EAU)	17
2. Extraction assistée par micro-ondes (EAM)	17
3. Extraction accélérée par solvant	18

Chapitre 3 : les gels

1. Définition et généralités.....	20
2. Facteurs influençant la viscosité du milieu.....	20
• La nature de l'agent gélifiant	20
• La concentration en gélifiant	20
• La force ionique du milieu	21
• Le pH	21
• La température	21
• La thixotropie	21
3. Les différents gélifiants	22
- Les gélifiants pour hydrogels	22

- Les gélifiants pour oléogels.....	22
- Les gélifiants utilisés à l'officine.....	22
4. Protocole de fabrication	23
• Les ingrédients	23
• Fabrication des gels	23
5. Contrôle	23
- Contrôle des caractères organoleptiques	23
- Contrôle de la viscosité	23
- Mesure de pH	24

PARTIE PRATIQUE

Chapitre 1 : la méthodologie expérimentale	25
1. Objectif de l'étude	25
2. Matériel.....	25
1) Matériel végétal	25
2) Les produits chimiques.....	25
3) Les appareils utilisés.....	25
3. La méthode de préparation et de conservation du fruit.....	25
4. Les méthodes de caractérisation de l'extrait du fruit en tant que biosurfactant.....	26
1) Mesure de la concentration micellaire critique(CMC) par conductimétrie.....	26
2) Mesure de l'activité émulsifiante.....	27
3) Mesure des propriétés moussantes.....	28
4) Mesure de la tension superficielle.....	29
5. Méthode d'extraction	32
6. Formulation du gel à base d'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i>	33
1) Les produits chimiques utilisés.....	33
2) Formulation proprement dite.....	37
7. Caractérisation du gel à base d'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i>	39
1) Le principe de la rhéologie.....	39
2) Analyse microbiologique.....	40
a. Les milieux de culture.....	40
b. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et des moisissures/levures totales (DMLT).....	41
c. Mesure de l'activité microbiologique.....	42
Chapitre 2 : résultats et interprétations	44

1. Résultats de la caractérisation de l'extrait du fruit en tant que bio surfactant.....	44
1) Résultats de la CMC.....	44
2) Résultats de l'activité émulsifiante.....	45
3) Résultats de la capacité moussante de la poudre brute du <i>SapindusMukorossi</i>	47
4) Résultats de tension superficielle.....	48
2. Résultats de la caractérisation du gel de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossiriche</i> en Saponine.....	49
1) Mesure du pH et de la viscosité du gel.....	49
2) Résultats rhéologiques du gel.....	50
• Résultats du comportement rhéologique du gel à base d'extrait brut du <i>SapindusMukorossi riche en Saponine</i>	50
• Résultats du comportement rhéologique du gel à base de SLES.....	52
3. Résultats de l'analyse microbiologique.....	54
1) Résultats du DGAT et DMLT.....	54
2) Résultats de l'activité microbiologique de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossi riche en Saponine</i>	54
3) Résultats de l'activité microbiologique du gel de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossiriche</i> en saponine.....	56
Conclusion.....	58
Bibliographie.....	
Annexe.....	

Liste des abréviations

m	: Mètre
cm	: Centimètre
°C	: Degré Celsius
µm	: Micromètre
CMC	: Concentration micellaire critique
µl	: Microlitre
sec	: Seconde
min	: minute
SDS	: Dodécyl sulfate de sodium
µg	: Microgramme
ml	: Millilitre
Kg	: Kilogramme
ppm	: Partie par million
h	: Heure
DL	: Dose létale
TPA	: Activateur tissulaire du plasminogène
EBV	: Epstein – Barr Virus
EA	: Earlyantigen : Antigène précoce
HPLC	: Chromatographie en phase liquide à haute performance
GHz	: Gigahertz
psi	: Pound per square inch
ppi	: Eau pour préparation injectable
tr	: Tour
C	: Concentration
Cs	: Concentration en surface
p	: Poids
v	: Volume
SLES	: lauryl éther sulfate de sodium
CM	: Capacité moussante
SM	: Stabilité moussante
g	: Gramme
l	: Litre
CL	: Concentration Létale
cP	: Centipoise

Liste des tableaux :

Tableau 4-1 : Les appareils utilisés.....	2
Tableau 4-2 : quantités des composants utilisés.....	3
Tableau 5-1 : Résultats de l'activité émulsifiante de la solution de saponine.....	4
Tableau 5-2 : Résultat de l'activité émulsifiante de la solution d'SDS.....	4
Tableau 5-3 : Résultats de la stabilité moussante de la poudre du <i>SapindusMukorossi</i>	4
.....	8
Tableau 5-4 : Variations des tensions superficielles en fonction de la concentration des solutions du <i>SapindusMukorossi</i>	4
.....	8
Tableau 5-5 : valeurs du pH et de la viscosité des deux gels à base d'extrait riche en Saponine et de SLES.....	4
.....	9
Tableau 5-6 : Résultats des paramètres rhéologiques du gel de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i> riche en Saponine.....	5
.....	2
Tableau 5-7 : Résultats des paramètres rhéologiques du gel de SLES.....	5
.....	2
Tableau 5-8 : Les diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i> dans l'éthanol riche en Saponine.....	5
.....	5
Tableau 5-9 : Les diamètres de la zone d'inhibition du gel de l'extrait brut du <i>Sapindusmukorossiriche</i> en Saponine.....	5
.....	6
Tableau 5-10 : échelle de mesure de l'activité antimicrobienne.....	5
.....	7

Liste des figures :

Figure 1-1	Squelettes des géninesstéroïdiques des saponosides (Exp: spirostane)....	4
Figure 1-2	Exemples de géninestriterpéniques.....	4
Figure 1-3	Structure de Sapinmukosides A-J.....	5
Figure 1-4	Structure des Spinmusaponines A-B et O-P.....	6
Figure 1-5	Structure des desSpinmusaponines C-E.....	7
Figure 1-6	Structure des Spinmusaponines F-J,Q-R.....	7
Figure 1-7	Structure des Sapinmusaponins K-N, Sapindosides A-E, Mukorozisaponine E1,G,Y1,Y2 et X.....	8
Figure 4-1	Poudre du fruit du <i>SapindusMukorossi</i>	26
Figure 4-2	Solution de la poudre du fruit du <i>SapindusMukorossi</i>	27
Figure 4-3	Les trois phases du mélange avec la phase intermédiaire qui représente l'émulsion.....	28
Figure 4-4	Mesure du volume de la mousse.....	29
Figure 4-5	(a) Molécules d'un tensio-actif dispersées, (b) micelle sphérique, (c)	

	micelle cylindrique, (l) est de l'ordre de quelques nanomètre (L) peut atteindre plusieurs micromètres.....	30
Figure 4-6	Diminution de la tension superficielle par ajout d'un agent tensio-actif...	30
Figure 4-7	Montage de la macération à froid sous reflux.....	32
Figure 4-8	Séchage de l'extrait à l'étuve.....	32
Figure 4-9	Structure chimique du triéthanolamine.....	33
Figure 4-10	Structure chimique de la cocamidopropylebétaine.....	34
Figure 4-11	Structure chimique de l'EDTA disodique.....	34
Figure 4-12	Structure chimique de la glycérine.....	35
Figure 4-13	Feuille d'Aloévera.....	36
Figure 4-14	Formulation finale du gel à base de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i>	38
Figure 4-15	Structure chimique du laureth sulfate de sodium.....	38
Figure 4-16	Milieu de culture PCA.....	40
Figure 4-17	Gélose Sabouraud+ chloramphénicol.....	40
Figure 4-18	Gélose TSA.....	41
Figure 4-19	Gélose Mueller-Hinton.....	41
Figure 5-1	Le fruit immature (à gauche), le fruit mature (à droite).....	44
Figure 5-2	Courbe de la variation de la conductivité en fonction de la concentration des solutions du <i>SapindusMukorossi</i>	44
Figure 5-3	Pouvoir émulsifiant de la saponine avec le Kérosène et l'huile d'olive...	47
Figure 5-4	Pouvoir émulsifiant de l'SDS avec le kérosène et l'huile d'olive.....	47
Figure 5-5	Courbe de la variation de la tension superficielle en fonction de la concentration des solutions du <i>SapindusMukorossi</i>	49
Figure 5-6	Consistance du gel à base d'extrait avant neutralisation.....	50
Figure 5-7	Courbe d'écoulement du gel à base d'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i> riche en Saponine: La viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement.....	51
Figure 5-8	Courbe d'écoulement du gel à base de SLES : La viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement.....	53
Figure 5-9	Résultats du DGAT et DMLT.....	54
Figure 5-10	Les zones d'inhibition de l'extrait brut du <i>SapindusMukorossi</i> riche en Saponine.....	55
Figure 5-11	Les zones d'inhibition du gel à base de l'extrait brut du <i>Sapindusmukorossi</i> riche en Saponine.....	57

Liste des équations :

Equation 3-1	La viscosité η en fonction de la température.....	21
Equation 3-2	La viscosité dynamique η	24
Equation 3-3	La viscosité en fonction de la constante de l'appareil.....	24
Equation 4-1	La capacité moussante	28
Equation 4-2	La stabilité moussante.....	28
Equation 5-1	Le pouvoir émulsifiant.....	45
Equation 5-2	Le modèle de CROSS.....	51

Introduction générale

Historiquement, les Hommes ont toujours puisé dans la nature de quoi se nourrir, se vêtir et se soigner. Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments. Environ 170 000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes. Pourtant, moins de la moitié des plantes aujourd'hui ont été étudiées pour leurs propriétés thérapeutiques.

En une quinzaine d'années, la chimie verte a connu un développement considérable à un niveau mondial et dans la plupart des domaines de recherches afin d'atteindre un mode de développement qui vise à répondre aux besoins actuels sans compromettre la capacité des générations futures à répondre aux leurs. C'est donc un mode de développement :

- socialement souhaitable (Ethique)
- écologiquement durable
- économiquement viable

L'arbre *SapindusMukorossi* est connu depuis des décennies par les populations qui ont toujours utilisé ses fruits en tant que produit de lessive quotidien et pour les soins corporels. Cet arbre dont le fruit appelé noix de lavage est très abondant en Algérie et très peu d'études y sont rapportés dans la littérature. La saponine, substance bioactive majoritaire dans ce fruit est un tensioactif naturel à plusieurs propriétés,et est utilisée par plusieurs industries. Que ce soit en agriculture en tant qu'insecticide, comme un détergent, en médecine et en pharmacologie pour ses propriétés antifongiques et anti-inflammatoires.

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est de contribuer à valoriser cette ressource végétale pour la sauvegarder, de contribuer ainsi à son exploitation dans le respect de la diversité des espèces. Il s'agit d'extraire les molécules bioactives, de les caractériser et ensuite les incorporer dans une formulation de gel à usage dermique vue ses caractéristiques microbiologiques intéressantes.

Afin de réaliser cette étude, on a structuré notre mémoire comme suit :

- une partie théorique dans laquelle sont présentées les notions bibliographiques sur cette espèce végétale et sur les méthodes d'extraction ainsi qu'une synthèse bibliographique sur les applications déjà envisagées.

- une partie expérimentale qui regroupe les aspects suivants :
 - Extraction de sa matière bioactive (la saponine) par une méthode classique (macération à froid dans l'éthanol)
 - Caractérisation de la saponine en tant que biosurfactant (détermination de la CMC par mesure de la conductivité, détermination des propriétés émulsifiantes dans deux huiles différentes, détermination du pouvoir moussant et de la tension superficielle).
 - Formulation d'un gel à base de l'extrait de saponine et d'évaluer son activité microbiologique sur les bactéries (Staphylococcus Auréus, Micrococcuslutéus, Eschérichia Coli) et la levure pathogène Candida Albicans.

Enfin, nous achèverons cette recherche par une conclusion générale et surtout par des recommandations et des perspectives à envisager pour la continuité de cette étude afin d'exploiter au maximum les excellentes propriétés de cette richesse naturelle.

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSI*

I.1. Présentation de la plante :

Sapindus mukorossi, un membre de la famille des sapindacées, est connu sous plusieurs noms tels que l'arbre à savon et noix de lavage.

Le *Sapindus mukorossi* est un arbre à feuilles caduques assez grandes avec un tronc droit jusqu'à 12 mètres de haut, atteignant parfois une hauteur de 20 m et une circonférence de 1,8 m, avec une couronne globuleuse et assez fine feuillage coriace. L'écorce est sombre à jaune pâle, assez lisse, avec nombreuses lignes verticales des lenticelles et de fines fissures exfoliant en écailles de bois irréguliers.

Les feuilles sont de 30 à 50 cm de long, alternes, paripennées ; pétiole commun très étroitement aréolé, glabre ; folioles 5-10 paires, opposées ou alternées, 5-18 par 2,5 à 5 cm, lancéolées, acuminées, glabres, souvent légèrement falciformes ou obliques.

L'inflorescence est une panicule terminale composé, 30 cm ou plus de longueur, avec des branches pubescentes, Les fleurs sont d'environ 5 mm, petites, blanches terminales, polygames, verdâtres, subsessiles, nombreuse.

Les fruits sont drupes globuleux, charnus, une graine, parfois deux drupels ensemble, environ 1,8 à 2,5 cm de diamètre. Les graines sont de 0,8 à 1,3 cm de diamètre, globuleux, lisse, noir et vaguement placée en fruit.[1]

I.1.1 Origine de la plante :

C'est un arbre largement cultivé dans les hauteurs des plaines Indo-Gangétique, Sivalik et les étendues du sub Himalaya à une altitude de 200 m à 1500 m.[1]

I.2. Les saponines :

I.2.1. Définition :

Les saponines sont généralement connues comme des composés non-volatils, tensio-actifs qui sont principalement distribués dans le règne végétal. Le nom «saponine» est dérivé du mot latin *sapo*, qui signifie «savon». En effet, les molécules de saponines dans l'eau forment une solution moussante.[2]

I.2.2. Répartition et localisation :

Les Saponines sont distribuées dans une large variété de produits alimentaires et dans plusieurs familles de plantes différentes. Les sources les plus importantes étant l'arbre

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSI*

Quillaja Saponaria Molina et Yucca Schidigera, et l'arbuste du Sud-Est asiatique Camellia Sinensis, connue sous le nom de « tea plant », en plus incluant les haricots, les mûres sauvages, les pois, les pommes de terre, la betterave sucrière et le thé.[2]

I.2.3. Structures et classification :

Structuralement, les saponines peuvent être classées en deux groupes selon la nature de l'aglycone, saponine stéroïdique et saponine triterpénique.

- a) **Saponine stéroïdique :** Ce sont des saponosides à génésistéroïdique (Figure:01), les stéroïdes sont des substances se trouvant à l'état libre chez le végétal, ce soit des stéroïdes, soit des alcools. Ces substances se rencontrent surtout chez les Monocotylédones (Liliacées, Amaryllidacées) et Dicotylédones (Scrofulariacées).

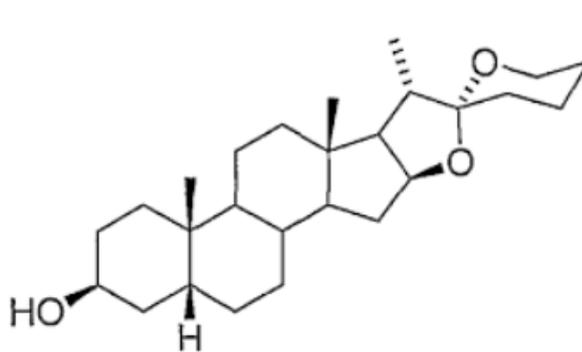


Figure 1-1: Squelettes des génésistéroïdiques des saponosides (Exp: spirostane).[2]

- b) **Saponine triterpénique :** Les triterpéniques à squelette en C₃₀ constituent la majorité des saponosides rencontrés notamment chez les dicotylédones (Caryophyllacées, Araliacées, Luippocastanacées...). Dans ce cas l'aglycone peut être pentacyclique ou tétracyclique. Les sapogénoltriterpéniques n'ont pas encore tous été identifiés



Figure 1-2: Exemples de génésitriterpéniques.[2]

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSI*

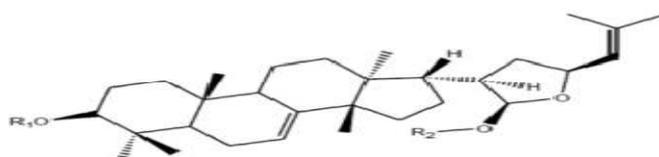
II.2.4. Les caractéristiques de la plante :

A. Caractéristiques chimiques :

Le fruit est apprécié pour les saponines (10,1 %) présentes dans le péricarpe et constitue jusqu'à 56,5 % de la drupe. Les principaux composés isolés de *Sapindus mukorossi* sont les saponines triterpénoïdales principalement trois types d'oléane, dammarane et tirucullane.

Les principaux constituants des fruits de *Sapindus mukorossi* sont les saponines (10 %-11.5%), sucres (10 %) et mucilage. Les saponines sont des métabolites secondaires de végétaux avec des activités biologiques divergentes.

Les saponines du *Sapindus* sont un mélange de six sapindosides (sapindosides A, B, C, D et saponines *mukorozi* (E1 et Y1), avec sapindoside B comme l'un des principaux constituants, isolé par n-butanol extraction de l'extrait éthanoïque du péricarpe du fruit de *Sapindus mukorossi* et identifié par chromatographie en phase liquide et spectroscopie de masse.



R ₁	R ₂
3-Ara	H
Glc	
2-Rha	
Glc ₆ -Rha	H
3-Ara	
Glc	Et
2-Rha	
3-Ara	
Glc	Me
2-Rha	
3-Ara	
Glc	Et
2-Rha ₃ -Ara	
3-Ara	
Glc	Et
2-Rha ₃ -Xyl	
3-Ara	
Glc	Me
2-Rha ₃ -Xyl	
3-Ara	
Glc	Et
2-Rha ₃ -Ara	
3-Rha	Me
Glc	
2-Rha ₃ -Ara	
Glc ₆ -Rha	Et

Avec :

- Glc:β-D-Glucopyranosyl
- Rha:α-L-hamnopyranosyl
- Ara:α-L-rabinopyranosyl
- Xyl:β-D-Xylopyranosyl

Figure 1-3 :Structure de Sapinmukosides A-J[1]

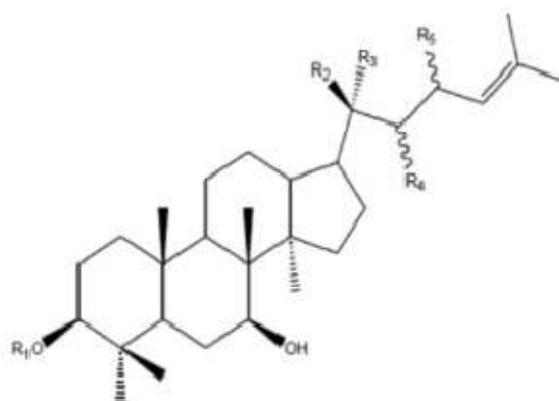
Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

Les saponines sont une grande famille de structure apparentée composés de stéroïdes ou triterpénoïdes aglycone (sapogénine) liée à une ou plusieurs fractions d'oligosaccharide par lien glycosidique. L'aglycone ou sapogénine, peut contenir un ou plusieurs liaisons non saturés C-C. La chaîne oligosaccharidique est normalement fixée à la position C3 (spirostanosides), mais beaucoup de saponines ont une portion de sucre supplémentaire à la position C2,6 ou C2,8 (bidesmosidique). La grande complexité de la structure de saponine provient de la variabilité de la structure aglycone, la nature des chaînes latérales et la position de fixation de ces portions sur l'aglycone. La fraction glucidique se compose des pentoses, des hexoses ou acides uroniques. En raison de cette complexité, les saponines sont difficiles à classer.

Différents types de triterpène, saponines d'oléanane, dammarane et type de tirucullane ont été isolées de la galle, les fruits et les racines de *SapindusMukorossi*. Les saponines de triterpénoïde type oléanane nommé Sapindoside A&B ont été signalées par les fruits du *SapindusMukorossi*.

Sapindoside C, Sapindoside D, qui est un hexaoside d'hederagenine et Sapindoside E, un nonaoside de l' hederagenine, a été isolé et identifié de l'extrait méthanolique des fruits de *SapindusMukorossi*.

Saponines de type dammarane, nommés Sapinmusaponines A & B, C-E ainsi que trois des glycosides phénylpropanoïdes connus ont été isolées de la Galle du *SapindusMukorossi*.



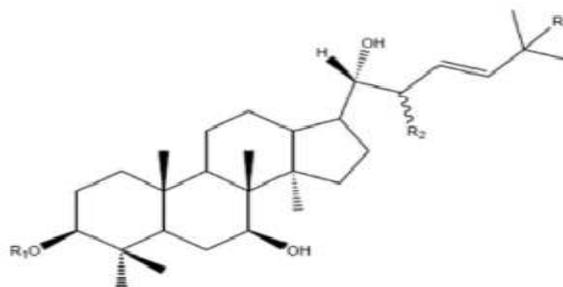
R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅
Glc ₂ -Rha	H	OH	OH	H
Glc ₂ -Rha	H	OH	OH	OH
Glc ₂ -Rha	OH	CH ₃	H	H
Glc ₂ -Rha	CH ₃	OH	H	H

Figure 1-4 : Structure des Spinmusaponines A-B et O-P.

Chapitre I : Généralités sur la *SAPINDUS MUKOROSI*

Les saponines de type Tirucallane, des saponinmusaponines, ont été isolés de la Galle du *SapindusMukorossi*. Les structures de ces saponines ont été élucidées sur la base des analyses spectroscopiques.

Comme les saponines triterpéniquesde type oléanane, Saponinmusaponine K-N, Mukorozisaponine G & E1, Saponidoside A & B le long avec les types dammarane tels que Saponinmusaponine O et P ont été isolé dans les fruits et les Galles de *SapindusMukorossi*.



R ₁	R ₂	R ₃
Glc ₂ -Rha	OH	OH
Glc ₂ -Rha	OH	OCH ₃
Glc ₂ -Rha	H	OCH ₃

Figure 1-5 : Structure des desSaponinmusaponines C-E.

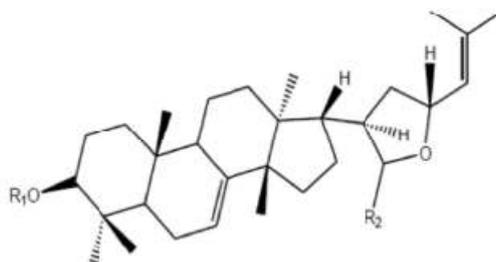
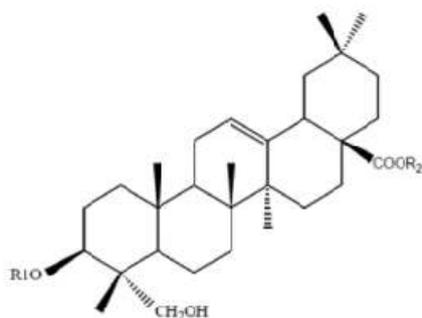


Fig	R ₁	R ₂
18	Glc ₆ -Rha	β-OCH ₃
19	Glc ₆ -Rha	α-OCH ₃
20	Glc ₂ -Rha 2-Rha	α-OCH ₃
21	Glc 6-Rha 2-Rha	β-OCH ₃
22	Glc 6-Rha	α-OCH ₃
23	Glc ₂ -Glc 2-Glc	α-OCH ₃
24	Glc 6-Rha	α-OCH ₃

Figure 1-6 : Structure des Saponinmusaponines F-J,Q-R.[1]

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSI*

Dans une autre étude, Mukorozisaponine Y1, Y2, X ont été isolés dans le péricarpe du *Sapindusmukorossi*.



R ₁	R ₂
Ara ₂ -Rha ₃ -Ara ₃ -OAC	H
Ara ₂ -Rha ₃ -Rha ₄ -OAC	H
2-OAC	
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl	H
3-OAC	
2-OAC	
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl	H
4-OAC	
3-OAC	
Ara ₂ -Rha ₁ -Xy	H
4-OAC	
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl ₄ -OAC	H
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl	Glc ₂ -Glc
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl	Glc ₂ -Glc
Ara ₂ -Rha	Glc ₂ -Glc
Ara ₂ -Rha	H
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl	H
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl ₄ -Glc	H
6-Rha	
Ara ₂ Rha ₃ Xyl ₄ Glc	H
2 Glc	
Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl	6 Rha
	Ara ₂ -Rha ₃ -Xyl ₄ -Glc
	2-Glc

Figure 1-7 : Structure des Sapinmusaponins K-N, Sapindosides A-E, Mukorozisaponine E1,G,Y1,Y2 et X.

Fractionnement d'un extrait éthanoïque de la galle du *SapindusMukorossi* a conduit à l'isolement des deux types de saponines triterpéniquiestirucallane, sapinmusaponine Q et R, ainsi que trois types connus de oléananes des saponines triterpéniques : sapindoside A,

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

sapindoside B et hederagenine-3-O-[β -D-xylopyranosyl-(1 \rightarrow 3)]- α -L-rhamnopyranosyl-(1 \rightarrow 2)- α -L-arabinopyranoside.

Les racines du *SapindusMukorossi* contiennent les saponines triterpéniques de type tirucallane comme Sapinmukoside A & B, Sapinmukoside C& D. il a été aussi signalé la présence de Sapinmukosides E-J. Les structures de Sapinmukosides A-J.[1]

B. Caractéristiques physico-chimiques :

La Saponine fait partie de la base de plante plus communément appelée agent tensio-actif. La Saponine est largement présente dans les plantes comme *SapindusMukorossi*.

Le péricarpe des fruits contient des saponines qui sont connu pour l'action agent tensio-actif. La teneur en saponines dans la maxime varie de 6 à 10 % en poids.[3]

-Rarement cristallisées.

-Thermosensibles.

-Masse moléculaire entre 600 à 2000 Daltons.

-Soluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool méthylique dilué, l'alcool à chaud.

-Les saponines acides précipitent par :

✓ Sulfate d'ammonium.

✓ Sulfate de plomb.

-moussent fortement dans l'eau par agitation.[2]

- Concentration micellaire critique :

La CMC pour la solution aqueuse obtenue à partir du péricarpe du *SapindusMukorossi* trempé du jour au lendemain dans de l'eau double distillée à 23° C. Ce mélange est agité avec un agitateur magnétique pendant 2 h à température ambiante puis filtré à l'aide d'un filtre tamis en acier inoxydable (taille des pores = 58 μ m). La concentration de la saponine dans cette solution est déterminée sur la base du ratio de poids du péricarpe du *SapindusMukorossi* à celle du volume d'eau. La CMC pour cette solution est estimée en employant tensiomètre de plaque. Puis un volume contrôlé de la solution du péricarpe du *SapindusMukorossi* est ajouté à l'aide de micropipettes calibrées (20-200 μ L, 200-1000 μ l) dans l'eau double distillée. Cette solution doit être brassée à l'aide d'une aiguille téflon pour une durée de 60 sec et ensuite équilibrée pendant 5 min avant la mesure de la tension superficielle. La concentration de la solution aqueuse a augmenté peu à peu par l'ajout de solution-mère et la tension superficielle est ensuite mesurée.

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

La CMC est déterminée en notant la concentration, et la tension superficielle reste constante à la valeur minimale. Le tracé du graph montre que la tension superficielle de la solution aqueuse du tensioactif diminue rapidement avec l'augmentation de la concentration.

Donc les noix de savon contiennent principalement des saponines qui sont des bio tensio-actifs responsables de ses propriétés fonctionnelles diverses.

Il est clair que le *SapindusMukorossi* brut maintient la valeur de la CMC, qui est un élément essentiel fonctionnel propriété d'un agent tensioactif et pourrait être utilisé comme un tensioactif bio.[3]

- **Activité émulsifiante :**

Est l'une des importantes propriétés de bio-agent tensioactif puissant. En raison de la nature amphiphiles des biosurfactants, il peut solubiliser dans l'eau des substances insolubles et des hydrocarbures.

L'indice d'émulsification a été testé pour trois solutions aqueuses de *SapindusMukorossi* ainsi que l'activité émulsifiante de trois solutions d' SDS avec kérosène.

L'activité émulsifiante pour toutes les solutions de *SapindusMukorossi* est environ 67 %. Il est aussi vu que l'activité d'émulsification du *Sapindus* avec kérosène est comparable à celle de la solution d' SDS, qui est aussi 67 %. Par conséquent, la Saponine s'avère être un bon substitut pour l'émulsification en comparaison avec des surfactants synthétiques.[3]

Il a aussi été montré que l'activité émulsifiante était excellente pour les 3 solutions de *sapindus* avec les huiles testées. Ces solutions présentent une activité plus élevée pour l'huile de moutarde, de ricin, soja et huile de noix de coco.[3]

C. Caractéristiques biologiques :

a. Activité anti-bactérienne :

Il a été évalué que l'extraction du *SapindusMukorossi* dans l'éthanol et le chloroforme inhibe la croissance de *Helicobacterpylori* (à la fois sensible et résistant), à concentrations très faibles, lorsqu'il est administré par voie orale pendant sept jours à un mâle de rat Wister. Dans l'étude in vitro, les isolats montrent une zone considérable d'inhibition à très faible concentration (10 µg/mL) et dans l'in-vivo.[3]

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

b. Activité insecticide :

Les Saponines possèdent une activité insecticide, provoquant l'inhibition de croissance et/ou de la mortalité chez les insectes testés, les chenilles du Cotton *Spodopteralittoralis* et les pucerons du pois *Acyrtosiphonpisum*. Dans les expériences avec *Acyrtosiphonpisum*, 0,1 % de saponine tuait tous les pucerons, alors qu'avec *Spodoptera* certaines chenilles étaient encore capables de devenir des adultes apparemment normales sur les aliments contenant 7 % de saponine.[4]

Un extrait éthanolique de *SapindusMukorossi* a été étudiée pour la répulsion et l'activité insecticide contre *Sitophilusoryzae* et *Pediculushumanus*. Le pourcentage moyen de mortalité a indiqué que les extraits causaient une mortalité significative et une répulsion sur les insectes ciblés et les bio essais ont indiqué que l'effet toxique et répulsif était proportionnelle à la concentration.[5]

c. Activité spermicide :

Les saponines de *SapindusMukorossi* sont connues pour être spermicide. Des changements morphologiques dans les spermatozoïdes humains après une exposition à cette saponine ils ont été évalués en vertu de la numérisation du microscope électronique. La concentration minimale efficace (0,05 % test en place) n'a pas affecté la topographie de la surface après exposition pendant une minute.

Toutefois, l'incubation des spermatozoïdes pendant 10 minutes a entraîné une rupture de la membrane plasmique dans la région céphalique.

Des concentrations plus élevées (0,1 %, 1,25 %, 2,5 % et 5,0 %) provoquaient plus ou moins des changements semblables qui comprenaient une vésiculation, vacuolisation, perturbation ou érosion des membranes dans la région céphalique. Ces résultats suggèrent que les modifications morphologiques observées résultent de modifications dans les glycoprotéines associées à la bicouche lipidique de la membrane plasmique de spermatozoïdes.[6]

Cette propriété spermicide a été utilisée dans les crèmes contraceptives.[7]

d. Activité Anti-Trichomonas :

Le mélange de saponine du *Sapindus* montre une activité anti-Trichomonas à une concentration 10 fois inférieure (0,005 %) que sa concentration minimale de spermicide efficace contre les spermatozoïdes humains (0,05 %).

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

La concentration en saponine inhibe dépendamment la capacité des parasites à adhérer aux cellules HeLa et diminue l'activité protéolytique des protéases de la cystéine du parasite.

Les Saponines ne produisent aucun effet indésirable sur les cellules hôtes dans le test de la mesure éventuelle réduction mitochondriale.

La Saponine perturbe le réseau d'actine cytosquelette sous la membrane cellulaire et affecte adhésion induite par la membrane de *Trichomonas* vers les cellules hôtes.[8]

e. L'activité anticancéreuse :

En raison de la grande variabilité dans la structure de la saponine, les saponines affichent toujours l'effet anti-tumorigène à travers les variétés des voies anti-tumorales.

Il y a plus de 11 classes de saponines distinguées dont dammaranes, tirucallanes, lupanes, oleananes, taraxasteranes, ursanes, cycloartanes, hopanes, lanostanes, cucurbitanes et les stéroïdes. Les Ginsenosides, appartenant aux dammaranes, ont été retrouvés bénéfiques dans l'inhibition de l'angiogenèse tumorale en supprimant l'inducteur dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, puis dans la prévention de l'invasion et métastase des cellules tumeurs.[9]

f. L'Activité hépatoprotectrice :

Il a été rapporté que les extraits de *SapindusMukorossi* (2,5 mg/L) et de *Rheumemodi* (3,0 mg/L) ont une capacité de protection in vitro des cultures primaires d'hépatocytes et in vivo dans un modèle de rat de tétrachlorure de carbone (CCl_4) remédiait une blessure du foie en juger de l'activité des marqueurs d'enzymes sériques. Ces cultures ont été traitées avec CCl_4 et des extraits de *SapindusMukorossi* & de *Rheumemodi*.

Une activité protectrice peut être démontrée dans le CCl_4 endommagait la monocouche primaire de la culture. Pour l'étude in vivo, la capacité hépatoprotectrice de l'extrait du péricarpe du fruit de *S. mukorossi* et les Rhizomes de *Rheumemodi* a été analysée dans le foie blessé CCl_4 – traité. Les extraits du péricarpe du fruit du *SapindusMukorossi* (2,5mg/mL) et les rhizomes de *Rheumemodi* (3,0 mg/mL) se sont avérés d'avoir des propriétés protectrices chez les rats avec CCl_4 . Ainsi, on a conclu que les extraits de *SapindusMukorossi* et de *Rheumemodi* ont une capacité protectrice aussi bien in vitro sur des cultures primaires d'hépatocytes et dans l'in-vivo dans un modèle de rat de CCl_4 remédiait une blessure du foie.[10]

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

g. l'Activité anxiolytique :

Des extraits méthanoïques de *SapindusMukorossi* (200 et 40 mg/L) présentent une activité anxiolytique significative par rapport aux anxiolytiques standard diazépam (2 mg/Kg) et la fluoxétine (10 mg/Kg).[11]

h. L'Activité molluscicide :

Des extraits du *SapindusMukorossi* ont montré effet molluscicide contre l'escargot pomme d'or, *Pomaceacaniculata Lamarck*. (Ampullariidae) avec les valeurs de la CL50 de 85, 22 et 17 ppm à des périodes de 24, 48 et 72 h, respectivement.[12]

Le composant actif molluscicide du fruit de *SapindusMukorossi* est soluble dans le chloroforme, l'éther, l'acétone et l'éthanol.

La toxicité de l'extrait éthanoïque de la poudre du fruit du *SapindusMukorossi* est plus élevée que les autres extraits ce qui indique que les composants molluscicides présents sont plus solubles dans l'éthanol que dans les autres solvants organiques.

La saponine est le composant actif présent dans le fruit du *Sapindusmukorossi* caractérisée par l'HPLC. Une comparaison de l'activité molluscicide de la fraction purifiée de la poudre du fruit du *SapindusMukorossi* de la colonne avec des molluscicides synthétiques démontre clairement que la fraction purifiée de *SapindusMukorossi* est plus puissante. La CL50 à 96 h de la fraction purifiée de la poudre du fruit du *SapindusMukorossi* est de (5,43 mg/L) contre *Lymnaeaacuminata* est inférieur à celui du molluscicides synthétiques carbaryl(14,40 mg/L), phorate (15,0 mg/L), formothion (8,56 mg/L) et niclosamide (11,8 mg/L) 32.[13]

La CL50 à 96 h de la poudre grossière du *SapindusMukorossi* (119,57 mg/L) contre *Lymnaeaacuminata* est inférieure à la poudre brute des racines de *Canna indica* (359,02 mg/L), la poudre des feuilles de *Thujaorientalis* (250,55 mg/L), la poudre du fruit de *Thujaorientalis* (255.12mg/L).[14], Rhizome du *Zingiber officinale* (273,80 mg/L), *Allium cepa*(253,27 mg/L).[15].

i. L'Inhibition de la tyrosinase et de piégeage des radicaux libres :

Les extraits de graines de *SapindusMukorossi* à l'aide de méthanol (MeOH), acétate d'éthyle (EA) ou hexane comme solvants montrent l'inhibition de la tyrosinase, piégeage, de radicaux libres, et des propriétés antimicrobiennes et anticancéreuses.

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSSI*

Les extraits du *SapindusMukorossi* ont montré une forte activité spécifique d'inhibition sur la prolifération de mélanome humain et des lignées cellulaires des poumons. Les données exposent le potentiel élevé de l'application des extraits de *S.Mukorossi* en cosmétologie médicale, suppléments alimentaires, antibiotiques et la chimiothérapie.[16]

j. L'Activité fongicide :

L'extrait brut de *SapindusMukorossi* montre une forte inhibition de la croissance contre la levure pathogène *Candida albicans*, ce qui provoque la candidose cutanée. Des extraits secs du péricarpe des fruits de *Sapindus* L. (Sapindaceae) ont été étudiés pour leurs activités antifongiques contre les isolats cliniques de levures *Candida albicans* et *Candida non-albicans* des sécrétions vaginales des femmes avec Candidose vulvo-vaginale. Quatre isolats cliniques de *C. albicans*, un seul isolat clinique de chacune des espèces *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C.tropicalis* et la souche de *C. albicans* ont été utilisés. L'extrait hydroalcoolique était bioactivement dirigé contre un isolat clinique de *C. parapsilosis*, et ont montré une forte activité. L'extrait de n-BuOH et une fraction de la Saponine ont montré une forte activité contre toutes les souches testées [17].

La fraction de saponine a inhibé les champignons *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Sabourauditescanis* et *Epidermophytonfloccosum*.[18].

k. L'Activité anti-inflammatoire :

La saponine brute et l'héderagenine isolée du *SapindusMukorossi* inhibe le développement de l'œdème induit par le carraghénane au niveau de la patte arrière du rat ainsi que sur les formations de granulome et exsudats induits par l'huile de croton chez les rats. L'activité anti-inflammatoire sur l'œdème induit par le carraghénane a été observée après l'administration intrapéritonéale et orale de saponine brute, tandis que héderagenine et les autres agents ont montré une activité uniquement lorsqu'il sont administrés.[19]

l. L'Activité piscicide :

Les effets du *SapindusMukorossi* ont été étudiés sur les poissons. Le Péricarpe du *SapindusMukorossi* est la partie la plus toxique qui donne 100 % de mortalité dans les 12 heures et la durée de survie moyenne s'est avérée 1,18 heure. DL10, DL50, DL100 comprise entre 3,5 ppm et 10 ppm à 48 hrs et possèdent un potentiel élevé pour l'élimination de poissons.[20]

Chapitre I : Généralités sur le *SAPINDUS MUKOROSI*

m. Activité anti-agrégation plaquettaire :

Des saponines de type tirucallane, sapinmusasaponins de la Galle du *SapindusMukorossi*, ont montré une activité modérée dans un 12-0-tétradécanoylphorbol-13-acétate (TPA) induit par le virus Epstein – Barr début d'essai d'activation antigène (EBV-EA).[21]

II. Méthodes d'extraction de la plante :

Basé sur l'importance des saponines comme propriétés pharmaceutiques en particulier dans la lutte contre le cancer a provoqué l'invention de nouvelles méthodes d'extraction afin d'obtenir le maximum pour faire face à la demande croissante. [22]

II.1 : Méthodes d'extraction conventionnelles

II.1.1 : L'extraction par macération :

L'extraction par macération est une extraction solide-liquide où le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la plante est extrait en faisant tremper le matériel végétal dans un solvant spécifique pour une période de temps [23]

L'efficacité du processus de macération est déterminée en deux facteurs principaux, la solubilité et la diffusion efficace. La solubilité est régie par la règle de base de « comme dissout comme » là où il est indiqué que des composés polaires se dissolvent dans les solvants polaires, et les composés non polaires se dissolvent dans les solvants non polaires. [24]

Le taux de dissolution d'un soluté dans le solvant d'extraction est déterminé par le taux de transfert de masse d'un soluté du matériel au solvant. [23]

En raison du gradient de la concentration dans l'interface solide-liquide, le transfert du soluté à l'intérieur de la matière végétale se produit en montrant une diffusion efficace qui se déroule. [23]

Aucun ustensile compliqué et l'équipement qui sont nécessaires pour la mise en place d'un système d'extraction par macération a été un choix populaire pour les chercheurs. Le seul facteur primordial à payer attention à des fins du renforcement d'extractibilité est la connaissance de l'intérêt de la similitude des composés bioactif et la polarité du solvant.

L'éthanol et le méthanol sont les solvants d'extraction les plus utilisés pour extraire les saponines végétales du matériel et l'éthanol est mieux préféré sans doute en raison de l'inquiétude amicale à l'environnement. La durée d'extraction est longue et parfois il faut jusqu'à des semaines en utilisant cette méthode, donc, l'extraction par macération est souvent aidée avec un agitateur mécanique pour raccourcir le temps d'extraction. [25]

II.1.2 : extraction par reflux et Soxhlet :

En raison du principe de travail similaire de l'extraction Soxhlet et reflux, la discussion est effectuée sous le même titre subsidiaire. La seule différence entre reflux et Soxhlet est que l'appareil de Soxhlet est constitué d'un dé à coudre pour loger le matériel végétal.

L'extraction par Soxhlet et par reflux impliquent un processus de distillation qui est couramment utilisé dans les laboratoires et industries en alimentaire et non-alimentaire.

Le processus consiste à chauffer une solution à ébullition et en retournant ensuite les vapeurs condensées à un flacon original. L'inconvénient de reflux et extraction Soxhlet est le temps consommé lorsqu'il prescrit au moins une heure pour une extraction.[26]

II.1.3 : Extraction ultérieure :

Il y avait de nombreuses études effectuées sur l'extraction de saponines en utilisant l'extraction à deux méthodes par la suite. Le but de l'extraction à deux méthodes pourrait par la suite donner un extrait hautement purifié avant la soumission à l'analyse HPLC pour l'isolement et l'identification des saponines du matériel végétal.

Pour la méthode par Soxhlet et reflux, l'extraction par Soxhlet est effectuée en premier lieu afin de supprimer les lipides du matériel végétal à l'aide de solvant comme le chloroforme et l'hexane. [27] [28] [29]

II.2 : Technologies d'extraction vertes :

II.2.1 : Extraction assistée par ultrasons (EAU) :

Le phénomène de l'échographie dans la création de cavitation des bulles dans le solvant en agissant comme un micro jet pour dénaturer la paroi cellulaire végétale quand les bulles s'effondrent à raréfaction a donné lieu à une extraction supérieure produisant des composés bioactifs.

Bien que l'extraction assistée par ultrasons est employée couramment dans beaucoup de composés bioactifs, seuls quelques-uns ont été trouvés dans l'extraction des saponines. [30]

II.2.2 : Extraction assistée par micro-ondes (EAM) :

Les micro-ondes sont non-ionisantes ondes électromagnétiques avec une bande passante entre 0,3 et 300 GHz. [31] [32]

Récemment, EAM a attiré l'attention pour l'extraction de composés bioactifs de matériel végétal en raison du temps d'extraction court, solvant minime son utilisation et son mécanisme de chauffage spécial. [31]

Les applications récentes de l'EAM de planter des métabolites secondaires tels que les flavonoïdes, les quinones, les phénylpropanoïdes, les terpénoïdes, alcaloïdes et des saponines ont été examinés. [33]

Les micro-ondes sont en mesure de pénétrer dans les biomatériaux et de générer de la chaleur en interagissant avec des molécules polaires telles que l'eau à l'intérieur des matériaux. La profondeur de pénétration des micro-ondes dans la matrice de la plante dépend de la constante diélectrique, taux d'humidité, la température et la fréquence du champ électrique. [32]

L'eau contenue dans la matière végétale est responsable de l'absorption de l'énergie des micro-ondes ce qui conduit à une surchauffe interne et perturbation de la structure cellulaire, et par conséquent, facilite la diffusion du composé bioactif de la matrice de la plante. [32]

II.2.3 : Extraction accélérée par solvant :

L'extraction par solvant accélérée a été considérée comme une technique verte dans la préparation de l'échantillon du matériau végétal avant l'analyse chromatographique. [31]

Elle est également connue sous le nom extraction liquide sous pression, extraction par solvant sous pression et extraction par solvant améliorée. Parfois, appelée aussi extraction de l'eau chaude sous pression, extraction sous-critiques ou surchauffée de l'eau, lorsque l'eau est utilisée comme solvant. [34]

C'est une technique d'extraction rapide automatisée qui utilise des solvants minime à pression et température élevée. Le mérite d'augmentation de la température est d'améliorer le transfert de solubilité et de la masse du soluté dans le solvant, et la tension élevée maintient le solvant inférieur à son point d'ébullition, activation rapide, sûre et efficace des analytes cibles à partir de matières végétales dans le solvant d'extraction. [36]

Le processus d'extraction est habituellement réalisé dans 15 à 25 minutes à l'aide de seulement 15 à 45 ml de consommation de solvant. Par conséquent, il a été largement appliqué dans les domaines de l'environnement, nourriture, polymère et les recherches pharmaceutiques.

L'EAS est composée de deux configurations principales, il y a les instruments statiques et dynamiques. La Configuration statique est le remplacement du solvant entre cycles si le procédé d'extraction se compose d'un ou plusieurs cycles d'extraction. Une pompe à haute pression est nécessaire pour pomper le solvant d'extraction dans le vaisseau de l'échantillon en permanence dans le programme d'installation dynamique.

Chapitre II : L'extraction

Les paramètres affectant le rendement de l'EAS sont la température, la pression, le type et de la composition des solvants, les modificateurs et les additifs, la composition de la matrice et le mode d'extraction. [35]

La température de fonctionnement plus couramment appliquée et la pression pour EAS sont 100 ° C à 1500 psi. [36]

III.1. Définition et généralités :

D'après Lloyd, un « gel est plus facile à reconnaître qu'à définir » on peut définir un gel comme un système colloïdale ; les molécules gélifiantes appelées également hydrocolloïdes sont des macromolécules qui en se solvatant vont former un réseau. Ce réseau macromoléculaire tridimensionnel solide ou système biphasique enferme entre ses mailles une phase liquide.

Selon la pharmacopée européenne « les gels sont constitués de liquides gélifiés à l'aide d'agent gélifiants appropriés. » on distingue « les gels lipophiles (oléogels) qui sont des préparations dont l'excipient est habituellement de la paraffine liquide additionnée de polyéthylène, ou des huiles grasses gélifiées par de la silice colloïdale ou des savons d'aluminium ou de zinc » et les gels hydrophiles (hydrogels) qui sont des préparations dont l'excipient est habituellement de l'eau, du glycérol ou du propylène glycole gélifiés à l'aide d'agent gélifiant approprié tels que l'amidon, des dérivés de cellulose, des carbomères ou des silicate de magnésium-aluminium » .[58]

III.2. Facteurs influençant la viscosité du milieu :

- La nature de l'agent gélifiant :

Selon le mode de solvatation (établissement de liaisons de diverses natures ou non), on distinguera les gélifiants (formation d'un véritable réseau) et les épaississants (macromolécules dont le poids moléculaires « gêne » le déplacement de l'eau).

- La concentration en gélifiant :

Selon les gélifiants les doses d'emploi seront très variables. Les gélifiants « vrais » peuvent être utilisés à faible concentration contrairement aux épaississants qui permettront moins facilement d'obtenir des gels de même viscosité.

L'expérience nous a montré que l'on obtiendra des gels de consistance similaire pour des doses de gélifiants allant de 0.5 à 4% selon la matière première utilisée. En effet il faudra 3.5% de blano (carboxyméthylcellulose), 2.5% de sèpigel 305 (gélifiant très utilisé en cosmétologie mais encore assez peu connu dans le domaine médical, associant 2 ingrédients : un polymère acrylique et un tensioactif non ionique : laureth-7), 0.7% de carbopol 1342 pour obtenir des viscosités comparables. Si l'on utilise un épaississant, il faut parfois multiplier les proportions par 10.

Il est à noter par ailleurs qu'il n'existe pas de relations linéaire entre concentration en gélifiant et viscosité obtenue.

- La force ionique du milieu :

La composition ionique du milieu est à prendre en compte car on constate qu'un certain nombre de gélifiants voient leur viscosité fortement chuter en présence de minéraux (c'est le cas de la plupart des gommés et des pectines). Dans ce cas, certains gélifiants seront à proscrire.

En revanche, pour les gélifiants d'origine algale (ex : acide alginique), l'ajout de cations divalents tels que le calcium est indispensable.

- Le pH :

Selon les molécules, le pH optimal de gélification est différent. Par exemple, un maximum de stabilité est observé à pH 9 pour les carraghénanes.

Une neutralisation du milieu pourra parfois s'avérer nécessaire, dans le cas des carbomères, par exemple. Les carbomères se présentent généralement sous l'aspect de poudres blanches, peu solubles dans l'eau et fortement acides en milieu aqueux (une solution à 1% présente un pH de 3). Leur mode de gélification implique une neutralisation. La viscosité des gels implique une neutralisation. La viscosité des gels dépend fortement du pH final (au-delà d'un certain pH, la viscosité chute et la préparation se liquéfie).

- La température :

La viscosité des gels est fonction de la température. Une augmentation de température du milieu entraînera souvent une diminution de viscosité. Mais ceci n'est pas toujours vrai : il faut parfois chauffer pour provoquer la gélification ; dans ces cas, l'élévation de température peut provoquer une évaporation de solvant et donc une concentration en gélifiant. Il y aura alors une augmentation de la viscosité. En prenant la viscosité à deux températures différentes (T_1 et T_2) et ce à l'aide d'un viscosimètre à mobile tournant (même mobile, même vitesse), on pourra prévoir le comportement d'un gel de viscosité η en fonction de la température, selon la formule suivante :

$$\eta = A \cdot e^{\left(\frac{B}{T}\right)} \text{ [éq 3-1]}$$

$$\text{Avec } B = (T_1 \cdot T_2 / T_1 - T_2) \cdot \ln(\eta_2 / \eta_1)$$

$$\text{Et } A = \eta_1 \cdot e^{(-B/T_1)}$$

- La thixotropie :

On définit la thixotropie comme la capacité que possèdent certains gels à voir leur viscosité diminuer au cours de l'agitation et à retrouver leur viscosité initiale au repos. Ce caractère peut être intéressant dans le cadre de certaines applications topiques.

Outre ces différents facteurs, il faut citer l'influence de la pression, des ultrasons, de la lumière ou encore de la présence de certaines molécules, tels que les molécules chargées, les sucres ...

Les gels des carbomères sont particulièrement sensibles à la lumière. En effet, sous l'action des rayonnements UV on observera un jaunissement du gel initialement transparent du fait de la dégradation oxydative du polymère. Cet inconvénient pourra être jugulé par l'utilisation d'un conditionnement opaque ou bien par l'ajout d'un filtre anti-solaires (dans le cas des cosmétiques commercialisés en emballages transparents).

La gomme de caroube présente une incompatibilité avec le mannitol et le glycérol : en leur présence, on observe une chute de viscosité.

La gomme xanthane, hétéropolysaccharides par une richesse particulière en groupements pyruvates et carboxylates, possède un caractère anionique qui interdit l'ajout de certains ingrédients tels que les ions trivalents (à pH neutre et acide), les colorants cationiques, les tensioactifs cationiques... [58].

III.3. Les différents gélifiants :

Les gels topiques sont utilisés dans un grand nombre de domaines médicaux. On utilise cette forme galénique comme véhicule pour un grand nombre de principes actifs tels que des anesthésiques, des hormones, des antiacnéiques, des antibactériens, des antifongiques, des antiherpétiques, anti-inflammatoires...

- Les gélifiants pour hydrogels :

Les gels hydrophiles sont formulés principalement grâce à 3 grandes catégories de gélifiants :

- Les carbomères (environs 50% des gels)
- Les dérivés de cellulose (environ 30%)
- Les macrogols (environs 10%)

Les autres gélifiants utilisés de façon sporadique sont l'amidon, le poloxamère, la gomme guar, la silice colloïdale et les caragénates.

- Les gélifiants pour oléogels :

Les gels huileux ou oléogels sont très peu utilisés. Ils se composent de paraffine liquide additionnée d'un gélifiant approprié tels que l'oxyde de silicium ou un stéarate métallique (aluminium ou de zinc)

Le dioxyde de silice colloïdale, commercialisé sous le nom d'Aérosil (Degussa), a vu le jour dans les années 1940. Outre ses propriétés gélifiantes, on lui reconnaît un intérêt pour la préparation des formes incorporant des poudres en tant qu'agent anti agglomérant. [59]

- Les gélifiants utilisés à l'officine :

Face à une prescription de dermatologue destinée à un patient bien précis, le pharmacien d'officine va devoir réaliser une préparation magistrale en incorporant dans un véhicule simple ou un ou

plusieurs principes actifs. Pour ce faire, il dispose d'excipients gélifiés hydrophiles prêts à l'emploi à base d'hydroxypropylméthylcellulose (effagel, panoxybase), d'hydroxypropylcellulose (topigel alcool) ou de carbomères (topigel eau). [60]

III.4. Protocole de fabrication :

- Les ingrédients :

La phase à gélifier sera constituée d'eau de qualités diverses, selon la zone d'application : il pourra s'agir d'eau purifié (cas le plus général) ou d'eau PPI (pour préparation injectable) dans le cas des préparations ophtalmiques. Par ailleurs, on utilisera des co-solvants (éthanol, polyol) si nécessaire, un humectant (glycérol, sorbitol, propyléneglycol) afin d'éviter le dessèchement ultérieure de ce type de préparation dans son emballage et sur la peau. Un système conservateur associant bactériostatique (parabènes) et fongistatique (acide sorbique, par exemple) est indispensable. Par ailleurs, les gels pourront être colorés et parfumés, d'autant que leur application sera pharmaceutique.

- Fabrication des gels :

A température ambiante, la phase à gélifier et soumise à une agitation mécanique dans un mélangeur sous vide, à l'aide d'un agitateur à turbine. Le gélifiants et alors ajouté progressivement. L'agitation est maintenue jusqu'à l'obtention d'un mélange homogène. Après une phase de mûrissement, le produit est ensuite conditionné en tube en aluminium vernissé ou en matière plastique ou encore en pot.[61]

III.5. Les contrôles :

- Contrôle des caractères organoleptiques :

L'examen macroscopique concerne essentiellement l'aspect avec recherche d'une ou d'une opacité ou d'une couleur éventuelle. Le contrôle de l'odeur et de la saveur (cas des dentifrices) peut s'avérer nécessaire.

- Contrôle de la viscosité :

On utilise le plus souvent un viscosimètre a mobile tournant dont le principe de fonctionnement est basé sur la mesures des forces de cisaillement au sein du milieu placé entre deux cylindres coaxiaux dans l'un est mu par un moteur et l'autre entraîné par rotation du premier. Il en résulte que la détermination de la viscosité devient une mesure (M) de l'angle de déviation du cylindre entraîné qui correspond à un moment de force, exprimé en newton-mètre. Pour un écoulement laminaire, la viscosité dynamique η , exprimé en pascals- secondes (Pa.s), obéit alors à la relation :

$$\eta = \frac{1}{\omega} \left(\frac{M}{4\pi \cdot h} \right) \cdot \left(\frac{1}{R_A^2} - \frac{1}{R_B^2} \right) \quad [\text{éq 3-2}]$$

Où h représente la hauteur d'immersion exprimée en mètres, du cylindre entraîné dans le milieu liquide, R_A et R_B les rayons, exprimés en mètre, des cylindres, R_A étant plus petit que R_B et ω la vitesse angulaire exprimée en radians par seconde

La constante k de l'appareil peut être déterminée à diverses vitesses de rotation, en utilisant les liquides appropriés pour l'étalonnage des viscosimètres. La viscosité obéit alors à la relation :

$$\eta = k \frac{M}{\omega} \quad [\text{éq 3-3}].$$

- Mesure de pH :

La mesure du pH est effectuée à l'aide d'un pH-mètre équipé d'une électrode il est à noter que le pH de la peau est d'environ 5,5 d'où la nécessité d'avoir un pH neutre ou légèrement acide. [61]

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

IV.1. L'objectif de l'étude :

- Contribuer à valoriser une plante très disponible en Algérie *SapindusMukorossi* dans le but de d'envisager de nouvelles applications pharmaceutiques ou cosmétiques.
- Evaluer certaines propriétés physico-chimiques intéressantes de cette espèce végétale.
- Valoriser l'extrait obtenu dans une formulation de gel en exploitant les activités fongicide et bactéricide afin d'augmenter la conservation de la substance active et faciliter son application.

IV.2. Matériels :

IV.2.1. Matériels végétales :

-Date et lieu de récolte :

Les fruits du *SapindusMukorossi* ont été récoltés dans la région de *Larbà Blida* au nord de l'Algérie en Février 2015. En cette période, elles sont mûres et de couleur marron foncé

IV.2.2. Les produits chimiques :

Les produits chimiques ainsi que les solvants utilisés sont de qualité pour l'analyse et de marque MERCK, PROLABO ou BASF.

IV.2.3. Les appareils utilisés :

Tableau 4-1 : Les appareils utilisés.

Balance analytique	KERN 220-5DM
Agitateur magnétique	STUART US152
Tamiseur vibrant	ERIMAKI
Rotavapor	HEIDOLPH LABOROTTA 4001
Centrifugeuse	ROTINA35 HETTICH ZENTRIFUGEN
Conductimètre	HANNA HI 2550
pH mètre	HANNA HI 2550
Vortex	VWR VV3
Agitateur à hélice	IKA EUROSTAR 20
Tensiomètre	GIBERTINI TSD
Rhéomètre	ANTON PAAR MCR 302
Viscosimètre	BROOKFIELD

IV.3. Préparation et de conservation du fruit :

Les fruits ont été rincés, séchés dans une étuve à une température de 38°C, concassés à l'aide d'un mortier et dénoyautés, puis les péricarpes ont été réduits en poudre à l'aide d'un mixeur BLENDER. La poudre obtenue a été ensuite tamisée à l'aide d'un tamiseur vibrant à une taille de

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

200 μ m afin d'obtenir une poudre fine, puis est conservée dans un bocal hermétique à une température ambiante.



Figure 4-1 : poudre du fruit du *SapindusMukorossi*.

IV.4. Les méthodes de caractérisation de l'extrait du fruit en tant que biosurfactant :

IV.4.1. Mesure de la concentration micellaire critique(CMC) par conductimétrie:

-Principe de la méthode :

La propriété distinctive et élémentaire que chaque agent surfactant doit posséder est la capacité de former des micelles, Toutes les propriétés physiques qui reposent sur le nombre ou la taille des particules en solution comme la tension superficielle, conductivité, viscosité, etc. sont fortement influencés par la propriété de formation de micelles du tensioactif.

La concentration micellaire critique (CMC) est la concentration de l'agent tensio-actif au cours de laquelle les molécules tensioactives existent sous forme agrégée. Dans la région de la CMC, toutes ces propriétés comme la conductivité, tension superficielle sont susceptibles de présenter un penchant à la courbe lorsque elles sont tracées en fonction de la concentration de l'agent tensio-actif.

-Procédé expérimental :

Différentes solutions du surfactant naturel sont préparées à des concentrations croissantes (g/100ml), (0.05 ; 0.08 ; 0.1 ; 0.12 ; 0.14 ; 0.16 ; 0.18 ; 0.2 ; 0.3 ; 0.4) en dissolvant des quantités exactes connues du péricarpe du fruit en poudre dans 100ml d'eau purifiée. Les solutions sont ensuite mises sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 3h puis filtrés à travers un papier filtre et centrifugées pendant 10mn à 1500 tr/mn, le liquide est ensuite recueilli dans des fioles jaugées et conservé à une température de 4°C. [39]



Figure 4-2 : Solution de la poudre du fruit du *SapindusMukorossi*.

On mesure la conductivité σ ($\mu\text{S}/\text{cm}$) de chaque solution, puis on trace le graph $f(c) = \sigma$. [39]

IV.4.2. Mesure de l'activité émulsifiante :

Deux solutions aqueuses de la poudre du *SapindusMukorossi* (une solution à la CMC et une de concentration supérieure à la CMC) ont été mises à l'essai séparément pour l'activité émulsifiante. Cette activité a été vérifiée en ajoutant 1 ml de chaque solution dans 4ml d'eau 6 ml de kérosène. En outre, ce mélange a été agité vigoureusement pendant 2 min à l'aide d'un vortex afin d'obtenir un maximum d'émulsification. L'activité émulsifiante du biosurfactant a été aussi testée en utilisant l'huile d'olive comme huile végétale. [40]

Nous avons également étudié l'activité émulsifiante d'un tensioactif synthétique Dodécyl Sulfate de Sodium (SDS) aqueux à la CMC (8.1 mM), et à une concentration supérieure à la CMC.

Après un temps de décantation de 48h, l'indice d'émulsification a été calculé en mesurant le pourcentage de la couche d'émulsion soit le rapport de la hauteur de la couche d'émulsion à la hauteur totale de la colonne de liquide.

Les résultats ont été obtenus par la moyenne de 3 réalisations. [40]

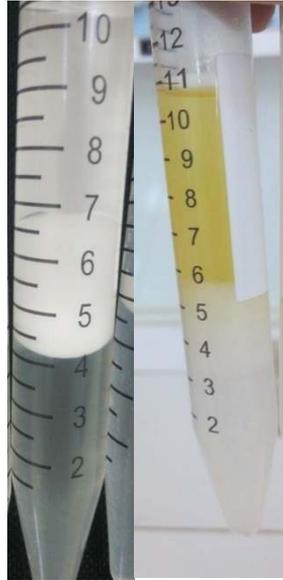


Figure 4-3 : Les trois phases du mélange avec la phase intermédiaire qui représente l'émulsion.

IV.4.3. Mesure du pouvoir moussant :

La présence des saponines est déterminée qualitativement par le calcul de la capacité moussante. Le procédé consiste à mélanger 1g du tensioactif dans 100ml d'eau distillée dans une éprouvette graduée d'1L. La suspension est agitée à 1600tr/mn pendant 5mn à l'aide d'un Homogénéisateur. Le volume est mesuré après 30s d'agitation.

La capacité moussante (CM) est exprimée en pourcentage de volume (liquide+mousse) en utilisant la formule suivante :

$$CM = \frac{\text{volume après agitation} - \text{volume avant agitation}}{\text{volume avant agitation}} \times 100 \quad [\text{éq4-1}]$$

Le volume de mousse est enregistré à 5, 30, 60, 120mn après agitation.

La stabilité moussante (SM) est calculée en utilisant la formule suivante :

$$SM = \frac{\text{Volumedelamousseaprèsuntemps "t"}}{\text{Volumedelamousseinitial}} \times 100 \quad [\text{éq 4-2}]. [41]$$

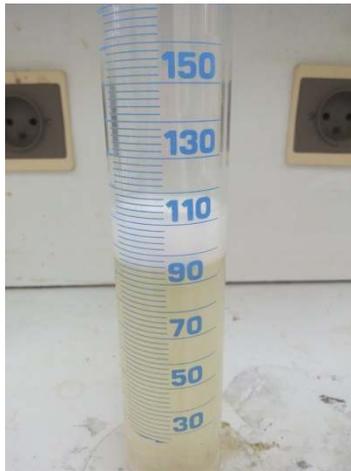


Figure 4-4 : Mesure du volume de la mousse.

IV.4.4. Mesure de la tension superficielle :

- **Principe :**

La tension superficielle est une propriété qui est émergée en raison d'un déséquilibre dans les forces intermoléculaires rencontrées à l'interface liquide/vapeur et/ou liquide/solide.

Le tensio-actif (surfactant) expose des caractéristiques permettant de réduire la tension superficielle d'une solution.[39] Présent en solution aqueuse, la partie hydrophobe de la molécule a tendance à fuir la solution, elle se place spontanément à l'interface eau-air. On forme ce qu'on appelle une monocouche. L'adsorption des tensio-actifs en surface abaisse l'énergie du système et la tension superficielle décroît.

Les tensioactifs en solution aqueuse présentent une grande variété de phase et de structure suivant la proportion du solvant. En général, les molécules amphiphile en solution ont tendance à se rassembler et à s'organiser de façon à minimiser le contact des parties hydrophobes avec l'eau.

A faible concentration, les molécules de tensio-actifs sont dispersées, quand on augmente la concentration de tensio-actifs en solution, on atteint une limite de solubilité.

A partir de la concentration micellaire critique (CMC), les molécules de tensio-actifs s'agrègent et s'associent souvent sous forme de micelles sphériques, de façon à réduire la surface de contact des queues hydrophobes avec l'eau, la tension de surface atteint son minimum et reste constante.

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

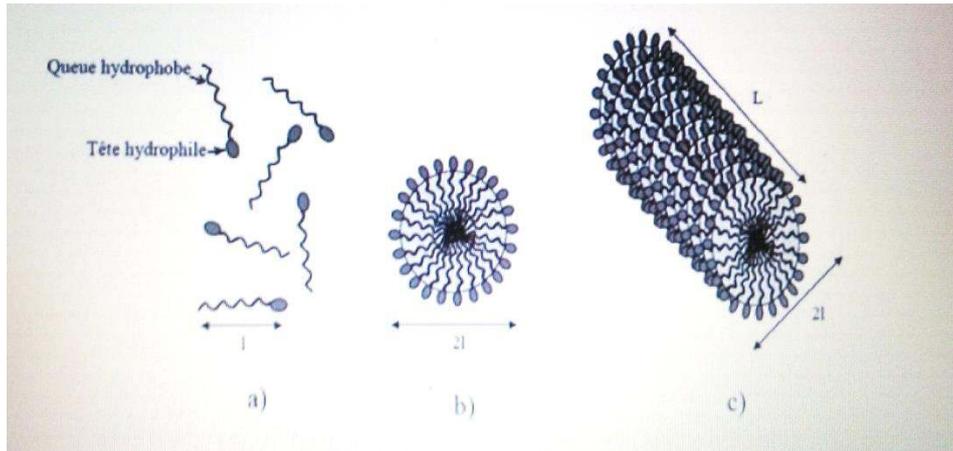


Figure 4-5 : (a) Molécules d'un tensio-actif dispersées, (b) micelle sphérique, (c) micelle cylindrique, (l) est de l'ordre de quelques nanomètre (L) peut atteindre plusieurs micromètres.

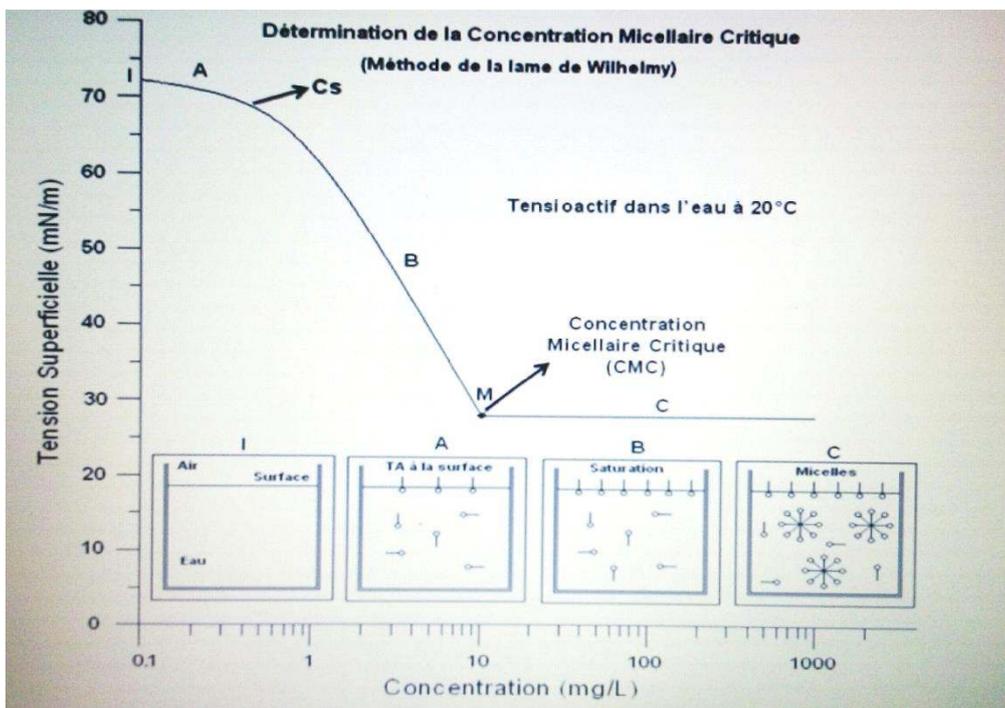


Figure 4-6 : Diminution de la tension superficielle par ajout d'un agent tensio-actif.

Comme le représente le schéma ci-dessus l'évolution de la tension superficielle en fonction de la concentration de tensio-actifs en solution : Lorsque $C < C_s$, la concentration en surface augmente avec la concentration en volume. Lorsque $C_s < C < CMC$, l'interface est saturée en tensio-actifs. La baisse de la tension superficielle est due uniquement à l'augmentation du potentiel chimique en volume $\mu = kT \ln C$ avec k : paramètre de Debye-Huckel ($1/k$ représente l'épaisseur de la double couche électrique ; portée des forces électrostatiques), T : température du milieu et C : la concentration

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

de la solution. Lorsque $C > CMC$ tout tensio-actif ajouté sert à former des micelles et la tension superficielle reste constante.

Au de la de la CMC d'autres phases et structures apparaissent, ainsi le diagramme des phases à l'équilibre comportent tout ou partie des phases suivantes : « micelles sphériques » si on augmente la concentration on forme des « micelles cylindriques ». La formation des micelles cylindrique n'est pas systématique cela dépend du tensio-actif. Ces derniers sont également appelées « micelles géantes » ou « polymère vivant » car une micelle géante est une grande chaîne dont la longueur est grande devant le rayon (quelques micromètres devant quelques nanomètres) et ressemble sous cet aspect à un polymère. Dans ces systèmes, les têtes hydrophiles sont en contact avec l'eau et les queues hydrophobes se rassemblent au cœur de la micelle formant ainsi une région sans solvant. Le rayon de la micelle est de l'ordre de la longueur d'une molécule de tensio-actif.

Puis on forme des « phases hexagonales », des « bicouche » et des « phases lamellaires ». La bicouche est un assemblage de molécules de tensio-actif situées systématiquement de part et d'autre d'un plan, à l'intérieur de la bicouche se regroupent les queues aliphatiques des molécules.

Les phases lamellaires sont constituées d'un empilement parallèle de bicouches séparées par la phase aqueuse.

La forme du rassemblement des molécules dépend de la température, de la concentration du tensio-actif ou encore de la salinité (cas de micelles chargées). Ces organisations au niveau microscopique induisent des différences d'aspect et/ou de comportement au niveau macroscopique, on observe ainsi différentes phases pour un système donné : phase de micelle géante, phase hexagonale, phase lamellaire. [42]

-Procédé expérimental :

Différentes solutions du surfactant naturel sont préparées à des concentrations croissantes (g/100ml), (0.05 ; 0.08 ; 0.1 ; 0.12 ; 0.14 ; 0.16 ; 0.18 ; 0.2 ; 0.3 ; 0.4) en dissolvant des quantités exactes connues du péricarpe du fruit en poudre dans 100ml d'eau purifiée. Les solutions sont ensuite mises sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique pendant 3h puis filtrés à travers un papier filtre et centrifugées pendant 10mn à 1500 tr/mn, le liquide est ensuite recueilli dans des fioles jaugées et conservé à une température de 4°C.

On mesure la tension superficielle de chaque solution à l'aide d'un tensiomètre GIBERTINI TSDou T=19°C, puis on trace le graphf(C) = TS. [39]

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

IV.5. Méthode d'extraction:

Dans un premier temps, le matériel végétal a été séché à l'étuve à une température inférieure à 40°C afin d'éviter toute dégradation thermique puis broyé en une poudre fine afin d'augmenter la surface de contact avec le solvant extracteur.

- La méthode d'extraction de routine employée est la macération à froid, où le composé bioactif (soluté) à l'intérieur de la plante est extrait en faisant tremper le matériel végétal dans un solvant spécifique pour une période de temps. [23]

-La quantité de solvant doit être appropriée à la quantité de matière végétale dont nous disposons (dans notre cas 100ml d'éthanol 96° pour 20g de poudre). L'extraction est effectuée sous agitation continue sous reflux où la poudre est mise en suspension dans l'éthanol à 96° selon le rapport 1/5 (P/V)(1g de poudre pour 5ml de solvant) à température ambiante pendant 72h. Après le macérât et filtré au papier filtre et centrifugé puis réduit jusqu'au rapport 1/1 (P/V) (1 ml d'extrait pour 1 g de poudre de fruit) par évaporation du solvant d'extraction au ROTAVAPOR et séchage dans l'étuve à 40°, on obtient les extraits bruts riches en saponines. [43]



Figure 4-7 : Montage de la macération à froid sous reflux.



Figure 4-8 : Séchage de l'extrait à l'étuve.

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

IV.6. Formulation du gel à base de l'extrait brut du *SapindusMukorossi* :

IV.6.1. Les produits chimiques utilisés :

-Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer :

- Description chimique : copolymères d'acide acrylique ou méthacrylique et d'une longue chaîne d'alkyl acrylate réticulé avec un éther allyle de pentaérythritol ou de saccharose
- Noms commerciaux : *Carbopol 1342, Carbopol 1382, Pemulen TR-1, Pemulen TR-2*
- Fonctions dans la formulation : les polymères *Carbopol 1342* et *1382* sont des agents épaississants, des agents de suspension pour les systèmes de tensioactif et des agents stabilisants dont l'utilisation est recommandée dans les shampooings antipelliculaires ou pour stabiliser les agents de conditionnement non miscibles. Ce sont également d'excellents épaississants et gélifiants légers pour les systèmes contenant des électrolytes, des tensioactifs anioniques et amphotères et les alcools éthyliques ou isopropyliques. Leurs nombreuses applications comprennent les shampooings antipelliculaires, les shampooings 2-en-1, les gels douche et de bain, les écrans solaires hydroalcooliques et les gels parfumés. [44]

-Triéthanolamine :

- Formule brute : La triéthanolamine est aussi connue sous le nom de trolamine, ou le nom systématique 2,2',2-nitrioltriéthanol, trihydroxytriéthylamine. Sa formule brute est $C_6H_{15}NO_3$.
- Structure chimique :

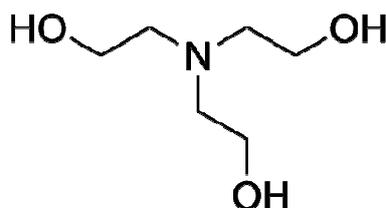


Figure 4-9 : Structure chimique du triéthanolamine.

- Apparence : Liquide hygroscopique incolore visqueux ou cristaux d'odeur caractéristique.
- Fonction dans la formulation: Il s'agit un composé chimique organique qui est une amine tertiaire et un trialcool. Comme d'autres amines, la triéthanolamine agit en tant que base faible due à la seule paire d'électrons sur l'atome d'azote.

En cosmétique, est employé comme compensateur de pH dans des préparations cosmétiques pour une vaste gamme de produits — lotion pour la peau, gels pour les yeux, crèmes hydratantes, shampooings, crème dépilatoire, mousse à raser... La triéthanolamine est un allergène reconnu, à pouvoir allergisant modéré.[46]

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

-Cocamidopropylebétaine :

- Nom UICPA : 2-[(3-dodécanamidopropyl)diméthylamino]acétate.
- Structure chimique :

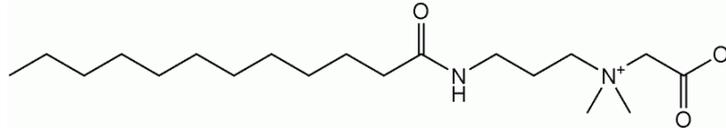


Figure 4-10 : Structure chimique de la cocamidopropylebétaine.

- Fonction dans la formulation : La bétaine de cocamidopropyle est un tensioactif dérivé de l'huile de noix de coco et de la diméthylaminopropylamine. Elle est utilisée dans de nombreux produits nettoyants, dont les gels douche et shampooings pour ses propriétés peu irritantes en comparaisons à d'autres agents de surface.[47]

-EDTA disodique :

- Nom chimique : Dihydrogéoéthylènediaminetétraacétatedisodique
- Formule chimique : C₁₀H₁₄O₈N₂Na₂.2H₂O
- Synonymes : Disodiumédétate.
- Structure chimique :

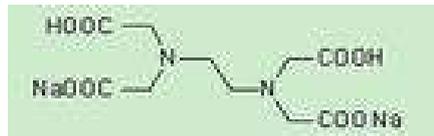


Figure 4-11 : Structure chimique de l'EDTA disodique.

- Fonction dans la formulation :

L'EDTA disodique est listé comme agent de rétention de la couleur, antioxydant, conservateur, stabilisant et séquestrant peut, selon sa vision, être ajouté à de nombreux aliments à concurrence de 25 mg/kg pour les spiritueux (jamais contraints à l'étiquetage des additifs) jusqu'à 1000 mg/kg dans les édulcorants. L'EDTA est très utilisé aux Etats-Unis où plusieurs variantes de l'additif existent. L'UE n'autorise à ce jour que l'EDTA calcio-disodique E385 que l'on peut trouver dans des denrées comme certaines matières grasses tartinables, des légumineuses, champignons et artichauts en conserve, certaines viandes transformées thermiquement et des sauces émulsionnées. Les mayonnaises ainsi que les vinaigrettes de fast-food contiennent souvent de l'EDTA.

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

L'EDTA disodique est également utilisé dans certains produits pharmaceutiques ainsi que dans les cosmétiques. [48]

-Glycérine :

- Formule brute : Le glycérol, ou glycérine, est un composé chimique de formule $\text{HOH}_2\text{C}-\text{CHOH}-\text{CH}_2\text{OH}$.
- Nom UNCPA : Propan-1,2,3-triol ou 1,2,3-propanetriol.
- Structure chimique :

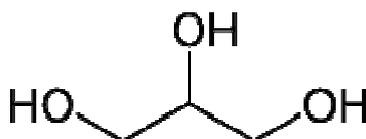


Figure 4-12 : Structure chimique de la glycérine.

- Propriétés physiques : Est un liquide incolore, visqueux et inodore au goût sucré et faiblement toxique, utilisé dans de nombreuses compositions pharmaceutiques.
- Propriétés chimique : Sa molécule possède trois hydroxyles correspondant à trois fonctions alcool responsables de sa solubilité dans l'eau et de sa nature hygroscopique. Un résidu glycérol constitue l'articulation centrale de tous les lipides de la classe des triglycérides et des phosphoglycérides.
- Fonction dans la formulation : Dans les médicaments, il est utilisé comme hydratant qui améliore l'onctuosité et la lubrification des préparations pharmaceutiques. Utilisé dans les suppositoires, sirops contre la toux (expectorants). Utilisé comme traitement de fond dans la maladie de Menière pour fluidifier les liquides des canaux vestibulaires.
Dans les cosmétiques, le glycérol est souvent utilisé comme agent hydratant, solvant et lubrifiant. Il a meilleur goût et est plus soluble que le sorbitol qui le remplace souvent. Utilisé dans les dentifrices, les bains de bouche, les crèmes hydratantes, les produits capillaires et les savons. Composant des savons à la glycérine, notamment les savons de Marseille dont la séparation par hauteurs des eaux glycérineuses amène à la finalisation de ce produit. [49]

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

-L'extrait d'*Aloe vera* :

- Composition chimique : *L'Aloevera* est une plante des milieux arides qui stocke l'eau dans ses feuilles. Aussi, l'eau est-elle le principal constituant de la feuille et représente de 98 à 99 % de son poids. La matière sèche qui ne représente donc que 1 à 2 %, est constituée à 60 % de polysaccharides.

La feuille d'*Aloevera* contient plus de 75 composés actifs (polysaccharides, composés phénoliques, acides organiques) ainsi que 20 minéraux, 20 acides aminés et 12 vitamines. Les principaux métabolites secondaires sont des composés phénoliques de type anthrone et chromone. Mais malgré les très nombreuses études, les activités thérapeutiques n'ont pas bien été bien corrélées avec les composés.

- Utilisation cosmétique et dermatologique : *L'Aloevera* est une plante utilisée en cosmétique depuis l'Antiquité par les tradipraticiens (guérisseurs). Traditionnellement, on pelait la feuille et on appliquait la pulpe directement sur la peau. On attribuait au gel des propriétés cicatrisantes confirmées très partiellement par l'expérimentation animale.

De nos jours, les industries cosmétiques mettent en avant les traitements possibles de l'épiderme avec cette plante : Stimulation de la production de collagène, du moins chez les rats. Traitement des brûlures grâce au gel frais de la plante. Cicatrisation : plusieurs études ont montré que le gel frais obtenu à partir de la partie centrale de la feuille diminue le processus inflammatoire et accélère la cicatrisation et lutte contre le vieillissement cutané. [50]



Figure 4-13 : Feuille d'*Aloévera*.

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

IV.6.2. Formulation proprement dite :

Pour 100g de préparation les quantités des produits utilisés sont :

Tableau 4-2: quantités des composants utilisés.

Les composants	Les quantités
Extrait de Saponines	10%
Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	0.7%
EDTA disodique	0.05%
Triéthanolamine	qsp
Glycérine	6%
Cocamidopropylebétaine	4%
Aloévera	1%
Parfum de noix de coco	0.5%
Eauosmosée	qsp

-Les étapes de la formulation :

- Faire dissoudre 10g de notre extrait de Saponines dans 20g d'eau osmosée.
- Préparer une solution contenant 0.7g de notre gélifiant Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer avec 0.05g d'EDTA disodique dans 57.75g d'eau osmosée (quantité suffisante pour 100 g) et laisser s'hydrater sous agitation à l'aide d'un agitateur à hélice à 250tr/mn. Puis ajouter notre solution de Saponines.
- Neutraliser le mélange avec 0.6g de Triéthanolamine.
- Ajouter 6g de glycérine, 4g de Cocamidopropylebétaine et 1g d'extrait d'Aloévera.
- Ajouter 0.5g de parfum de noix de coco.
- Mesure le pH et la viscosité du gel.

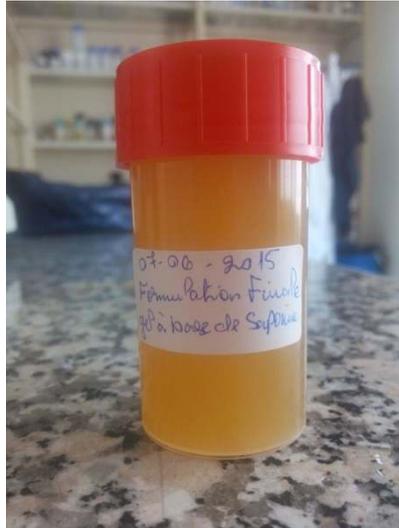


Figure 4-14 : Formulation finale du gel à base de l'extrait brut du *SapindusMukorossi*.

On a également préparé un gel à base de Laureth sulfate de sodium à 10% avec les mêmes composants du gel de Saponine et les mêmes quantités utilisées afin de comparer leurs propriétés physico-chimique.

-Laureth sulfate de sodium :

- Formule brute: $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}_2(\text{OCH}_2\text{CH}_2)_n\text{OSO}_3\text{Na}$.
- Structure chimique :

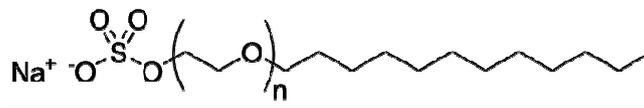


Figure 4-15 : Structure chimique du laurethsulfate de sodium.

- Fonction dans la formulation : Le lauryl éther sulfate de sodium ou laureth sulfate de sodium, est un détergent et surfactant ionique fort, couramment utilisé en biochimie et biologie moléculaire. C'est un des nombreux dérivés de l'huile de palme.

Le lauryl éther sulfate de sodium est une petite molécule amphiphile composée d'un corps hydrophobe et d'une tête hydrophile, il désagrège les bicouches lipidiques membranaires par rupture des associations hydrophobes. Il dénature les protéines, sans rompre les ponts disulfures. Il confère aux protéines une charge globale négative.

On le retrouve dans divers produits ménagers (savons, shampoings, pâtes dentifrices etc.). Il est peu onéreux et est un agent moussant très efficace.[51]

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

IV.7. Caractérisation du gel à base d'extrait brut du *SapindusMukorossi*:

IV.7.1. Le principe de la rhéologie :

La rhéologie est un terme inventé par le professeur BINGHAM, du grec *rew*, « couler », qui signifie étude des écoulements et des déformations des corps sous l'effet des contraintes qui leurs sont appliquées.

La connaissance des propriétés rhéologiques des dispersions et de la plus haute importance, car, le plus souvent le champ d'application dépendra de sa consistance. La détermination de ces propriétés constitue non seulement l'un des meilleurs moyens d'étude de l'influence des paramètres de formulation et des procédés de fabrication sur la qualité d'un produit, mais aussi une méthode de contrôle de la reproductibilité de la production. De plus, il est généralement admis que les mesures rhéologiques sont parmi les plus sensibles pour apprécier globalement les changements qui se produisent au sein des dispersions au cours de leur conservation.

Les mesures rhéologiques qui présentent l'avantage de pouvoir être effectuées directement sur les préparations non-diluées, reflètent en effet les modifications de caractéristiques physiques fondamentales, telles que la tailles des particules dispersées, leur distribution et leur agrégation, qui traduisent la stabilité d'un système dispersé. Dans de nombreux cas ces mesures permettent d'interpréter les mécanismes moléculaires ou particulières responsables du comportement rhéologique observé.

En science pharmaceutique le formulateur est amené à traiter des solides pâteux ou des liquides épais. La viscosité n'est pas la seule grandeur à observer la plupart des matériaux possèdent également des propriétés élastiques d'autant plus marquées qu'ils possèdent une organisation moléculaire complexe.

Les phénomènes rhéologiques et la détermination de leurs propriétés ont une grande importance, notamment dans : la consistance et la texture des formulations topiques, la préparation des formulations et le suivi de la stabilité physique du produit fini, l'administration d'une formulation, la biodisponibilité d'un médicament et enfin, dans l'évaluation de certains fluides physiologiques.

Lorsqu'on soumet un matériau à un ensemble de forces il peut se déformer. L'intensité et la répartition des forces vont influencer son mouvement. La plupart des rhéomètres utilisés permettent d'appliquer aux échantillons des contraintes engendrant un mouvement laminaire de cisaillement simple. Au cours de ce mouvement le matériau se présente comme une superposition de couches infiniment minces glissant les unes par rapport aux autres sans transfert de matière. En augmentant la vitesse relative d'écoulement des couches les unes par rapport aux autres, on observe qu'à partir d'un certain seuil le régime laminaire disparaît : on atteint ce qu'on appelle le « régime turbulent ».

Selon les rhéomètres utilisés, on impose une vitesse de déformation $\dot{\gamma}$ et on mesure τ la contrainte de cisaillement, ou, au contraire, τ étant appliquée, on mesure $\dot{\gamma}$. Les rhéogrammes ($\tau, \dot{\gamma}$) traduisent graphiquement les comportements des fluides étudiés.[42]

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

Afin d'étudier les déformations de nos gels, on les place dans un rhéomètre Anton Paar MCR 302.

IV.6.2. Analyse microbiologique :

IV.6.2.a. Les milieux de culture :

- PCA : La gélose glucosée à l'extrait de levure, appelée par les Anglo-Saxons "Plate Count Agar" ou PCA, est utilisée en bactériologie alimentaire pour le dénombrement des bactéries aérobies psychrotrophes, mésophiles dans le lait, les viandes, les produits à base de viande, les autres produits alimentaires, ainsi que pour l'analyse des produits pharmaceutiques, des produits cosmétiques et de leurs matières premières. [52]



Figure 4-16 : Milieu de culture PCA.

- Sabouraud+chloramphénicol : La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures saprophytes ou pathogènes.

Elle est recommandée essentiellement pour l'isolement des moisissures dans les prélèvements peu chargés en bactéries, les contrôles de stérilité des produits pharmaceutiques, cosmétiques ou alimentaires, la culture des moisissures en vue de réaliser leur identification.

Dans le cas de prélèvements fortement contaminés, il est préférable d'utiliser la gélose Sabouraud + chloramphé-nicol.[53]



Figure 4-17 : Gélose Sabouraud+ chloramphénicol.

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

- TSA : La gélose Trypto-caséine de soja (TSA) est un milieu universel convenant pour un large éventail d'emplois. Du fait de son excellente nutritivité, elle peut être utilisée, d'une part pour les culture et isolement des bactéries aérobies et anaérobies, d'autre part pour favoriser la croissance des germes particulièrement exigeants.[54]



Figure 4-18 : Gélose TSA

- Mueller-Hinton : La gélose de Mueller Hinton est reconnue par tous les experts comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et aux sulfamides. Il constitue un excellent milieu de base pour la fabrication de géloses au sang.[55]

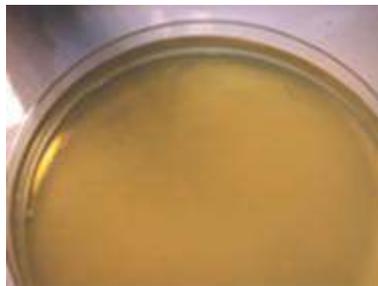


Figure 4-19 : Gélose Mueller-Hinton.

IV.6.2.b. Dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) et des moisissures/levures totales (DMLT) :

La présence de certains microorganismes dans des préparations non-stériles peut réduire voir annuler l'activité thérapeutique du produit, et constitue un danger potentiel pour la santé du patient. Les fabricants sont donc tenus d'assurer une faible charge microbienne (biocharge) dans le produit fini.

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

- Technique du dénombrement des germes aérobies totaux DGAT :
 - Faire fondre la gélose PCA préparé à l'avance.
 - Refroidir et maintenir à 48°C.
 - Faire diluer notre gel dans un bouillon DE à 10^{-1} (1g dans 10ml de bouillon DE)
 - Couler 10 à 15 ml de milieu dans des boîtes de Pétri stériles..
 - Homogénéiser parfaitement.
 - Laisser solidifier sur une surface froide.
 - Etaler 1ml de notre inoculum dans les boites Pétri en surface à l'aide d'un étaleur en verre.
 - Laisser solidifier à nouveau.
 - Incuber à 32°C pendant 72h.[53]

- Technique de dénombrement des moisissures/levures totales :
 - Transférer l'échantillon à analyser sur le milieusabouraud.
 - Etaler 1ml d'inoculum en surface à l'aide d'un étaleur en verre stérile.
 - Incuber à 20 - 25°C pendant 5 jours.[53]

IV.6.2.c. Mesure de l'activité microbiologique :

L'essai consiste en la contamination artificielle de la préparation, si possible dans son récipient définitif, au moyen d'un inoculum de micro-organismes appropriés prescrit, au maintien de la préparation inoculée à une température prescrite, au prélèvement d'échantillons à partir du récipient à intervalles de temps donnés et au dénombrement des organismes dans les échantillons ainsi prélevés.

Les propriétés de la conservation sont adéquates si, dans les conditions de l'essai une diminution importante, ou selon le cas, l'absence d'augmentation du nombre de microorganismes dans la préparationensemencée se produit après les temps et aux températures prescrites. Les critères d'acceptation, en terme de diminution du nombre de microorganismes en fonction du temps, varient pour les diverses catégories de préparations, selon le degré de protection recherché.[56]

-Les microorganismes d'essai :

- *Escherichia Coli*
- *Staphylococcus aureus*
- *MicrococcusLuteus*
- *Candida Albicans*

Chapitre IV : La méthodologie expérimentale

-Antibiogramme:

- Préparer un inoculum en culture pure de 18h : on prend de chaque espèce une seule colonie et on fait un ensemencement par des stris étroits au début puis larges à la fin sur une gélose TSA pour les souches bactériennes et le Sabouraud+chloramphénicol pour le *CandidaAlbicans*.
- Incuber dans une étuve à 37°C pendant 18h.
- Préparer des suspensions bactériennes : racler une petite quantité de la souche à l'aide d'une pipette pasteur et la faire diluer dans 9ml d'eau distillée puis agiter à l'aide d'un vortex pendant 1mn. Pour ce qui est du *CandidaAlbicans* il faut racler plusieurs fois.
- Mesurer la densité optique, elle doit être dans un intervalle de [0.1-0.2] pour les suspensions bactérienne et aux alentours de 1 pour ce qui est de la suspension du *CandidaAlbicans*.
- Réaliser des puits de 0.5 cm de diamètre sur la gélose.
- Imbiber un écouvillon avec la suspension et l'étaler de façon à recouvrir toute la surface.
- Remplir les puits avec l'extrait de saponine diluée dans un peu d'eau distillé.
- Afin d'obtenir une prédiffusion, il recommandé de laisser les boites pendant 30mn à la température du laboratoire avant de placer à l'étuve à 37°C pendant 24h.

- Refaire la même analyse avec notre produit fini (Gel à base de l'extrait riche en saponine).
- Mesurer le diamètre de la zone d'inhibition.[57]

V.1. Résultats de la caractérisation de l'extrait du fruit en tant que bio surfactant :

Les figures ci-dessous illustrent l'aspect des fruits à différents stades de maturité. Notre étude a été réalisée sur les fruits représentés à droite et qui montrent une bonne maturité avec la couleur marron foncé.



Figure 5-1: le fruit immature (à gauche), le fruit mature (à droite).

V.1.1. Détermination de la CMC :

La variation de la conductivité avec la concentration des solutions de la poudre brute du *Sapindus Mukorossi* dans la plage de 0.05 g/100ml jusqu'à 0.4 g/100ml est présentée sur la Figure 5-2 ci-dessous

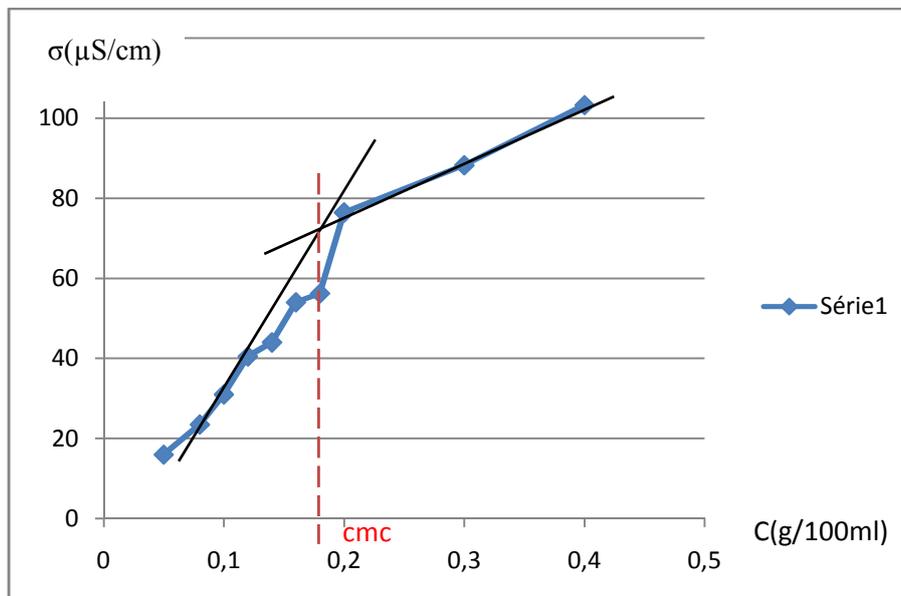


Figure 5-2 : Courbe de la variation de la conductivité en fonction de la concentration des solutions du *Sapindus Mukorossi*.

Chapitre V : Résultats et discussion

Il est visible qu'il y a une augmentation très rapide de la conductivité dans l'intervalle de concentration [0.16-0.2] g/100ml. Au-delà de cet intervalle, on constate un changement de pente. L'intersection des deux demies droites nous permet de déduire la concentration micellaire critique estimée à **0.18 g/100ml**.

Avec une augmentation de la concentration des solutions du *SapindusMukorossi* de 0,05 à 0,18 g/100ml, la conductivité augmente également, entre 0.16 et 0.2 g/100ml, la courbe est légèrement penchée puis au-delà de 0,18 g/100ml, la conductivité augmente à nouveau.

À faible concentration de Saponine, les molécules existent sous la forme monomère et les molécules d'eau entourent la partie hydrophile du surfactant résultant une conductance initiale faible. La formation de micelles est mise en évidence lorsqu'il y a un changement brusque de la conductivité donc la concentration précédente peut être considérée comme la concentration micellaire critique (CMC)

Au-delà de la CMC, la conductivité augmente lentement, les interactions des micelles avec les autres micelles, la formation de plus grandes micelles ou interactions intermicellaires cumulatives peuvent être à l'origine de ces comportements. [39]

V.1.2. Détermination de l'activité émulsifiante :

Le pouvoir émulsifiant des solutions de surfactants naturels extraits a été déterminé moyennant la formule :

$$\text{Pouvoir émulsifiant} = \frac{\text{hauteur de la couche d'émulsion}}{\text{hauteur totale de la colonne liquide}} \times 100[\text{éq 5-1}]$$

L'activité émulsifiante est très importante pour caractériser les propriétés d'un tensioactif et prouver son efficacité pour différentes applications

Par conséquent, on a déterminé les indices d'émulsification pour deux solutions de la poudre brute du *SapindusMukorossi* l'une à la CMC et l'autre à une concentration supérieure à la CMC on a également comparé à 2 solutions d'SDS, comme étant un tensioactif universel ayant déjà prouvé sa grande efficacité.

Les deux solutions du biosurfactant montrent une bonne activité émulsifiante avec le kérosène par rapport à l'SDS par conséquent, la saponine s'avère être un bon substitut pour l'émulsification en comparaison avec un surfactant synthétique.

Chapitre V : Résultats et discussion

Il est important de noter que la solution d' SDS à la CMC présente une activité moindre avec l'huile d'olive par rapport à la solution du *SapindusMukorossi* à la CMC contrairement à une concentration supérieure à la CMC.

Les résultats des activités émulsifiantes sont regroupés sur les tableaux ci-dessous

- **Solution de saponine :**

Tableau 5-1 : Résultats de l'activité émulsifiante de la solution de saponine.

	Solution à 0.1g/100ml						Solution à 0.2g/100ml					
	avec l'huile d'olive			Kérosène			Huile d'olive			Kérosène		
Vol (ml)	2	2.5	3	2.5	0.5	1.5	1	0.7	0.7	3.7	0.8	0.1
% émulsion	18.1	22.7	27.3	22.7	4.5	13.6	9.1	6.4	6.4	33.6	7.3	0.9
Moyenne %	22.7			18.15			7.3 20.45					

- **Solution d' SDS**

Tableau 5-2 : Résultat de l'activité émulsifiante de la solution d' SDS.

	Solution à 0.25g/100ml						Solution à 0.5g/100ml					
	Huile d'olive			Kérosène			Huile d'olive			Kérosène		
Vol (ml)	0.5	1	1.5	0.5	0.3	0.2	2.4	2.7	3.5	1.8	3.5	1.2
% D'émulsion	4.5	9.1	13.6	4.5	2.7	1.8	21.8	24.5	31.8	16.4	31.8	11
Moyenne %	9.1			3			26			19.7		

Les figures ci-après illustrent les tests réalisés pour évaluer l'activité émulsifiante.

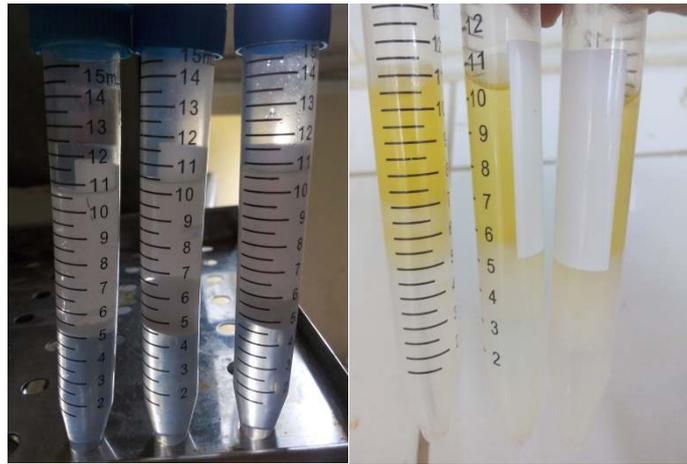


Figure 5-3 : Pouvoir émulsifiant de la saponine avec le Kérosène et l'huile d'olive.



Figure 5-4 : Pouvoir émulsifiant de l'SDS avec le kérosène et l'huile d'olive.

V.1.3. Détermination de la capacité moussante de la poudre du fruit du *SapindusMukorossi*:

Une autre caractéristique importante des tensioactifs est la capacité moussante qui exprime la stabilité de la mousse et déterminée par la formule :

$$\text{Capacité moussante} = \frac{\text{volume après agitation} - \text{volume avant agitation}}{\text{volume avant agitation}} \times 100$$

Volume avant agitation=100ml

Volume après agitation=130ml

$$CM = \frac{130 - 100}{100} \times 100 = 30\%$$

Chapitre V : Résultats et discussion

$$\text{Stabilité moussante} = \frac{\text{volume de la mousse après un temps "t"}}{\text{volume de la mousse initial}} \times 100$$

Volume de la mousse initial=36ml

Tableau 5-3 : Résultats de la stabilité moussante de la poudre du *SapindusMukorossi*.

t (min)	Volume de la mousse (ml)	SM %
5	26	72.2
30	22	61.1
60	20	55.5
120	18	50

Les résultats du tableau ci-dessus prouvent que les Saponines ont une bonne stabilité moussante.

V.1.4. Résultats de la tension superficielle :

Dans la figure 5-5 ci-dessous, on observe une augmentation de la tension superficielle dans l'intervalle [0.05-0.1] g/100ml, cette augmentation est expliquée par l'augmentation de la concentration en surface de la saponine avec la concentration en volume. Lorsque l'interface est saturée en biosurfactant, la tension superficielle diminue entre [0.1-0.12] g/100ml donc c'est la région prémicellaire. A une concentration de 0.12g/100ml un changement brusque a été observé, à ce moment-là la courbe a montré un pli dans la valeur de la tension superficielle, ce qui a indiqué que la CMC a été atteinte. Lorsque la concentration est supérieure à la CMC tout biosurfactant ajouté sert à former des micelles, la tension superficielle a augmenté au départ mais, plus la concentration de la Saponine augmente (au-delà de la CMC) la tension superficielle baisse plus régulièrement.[39]

Tableau 5-4 : Variations des tensions superficielles en fonction de la concentration des solutions du *SapindusMukorossi*.

Cg/100ml	0.05	0.08	0.1	0.12	0.14	0.16	0.18	0.2	0.3	0.4
Tension superficielle (1) mN/m	43.95	46.8	46.8	42.52	45.37	43.95	46.8	43.95	43.95	42.52
(2) mN/m	42.12	45.37	46.8	42.52	46.18	43.95	45.37	42.52	41.1	42.52
(3) mN/m	41.71	45.37	45.37	41.1	45.37	43.95	45.37	42.52	42.12	41.1

Chapitre V : Résultats et discussion

Moy mN/m	42.6	45.8	46.3	42.04	45.64	43.95	45.8	43	42.39	42.05
-----------------	------	------	------	-------	-------	-------	------	----	-------	-------

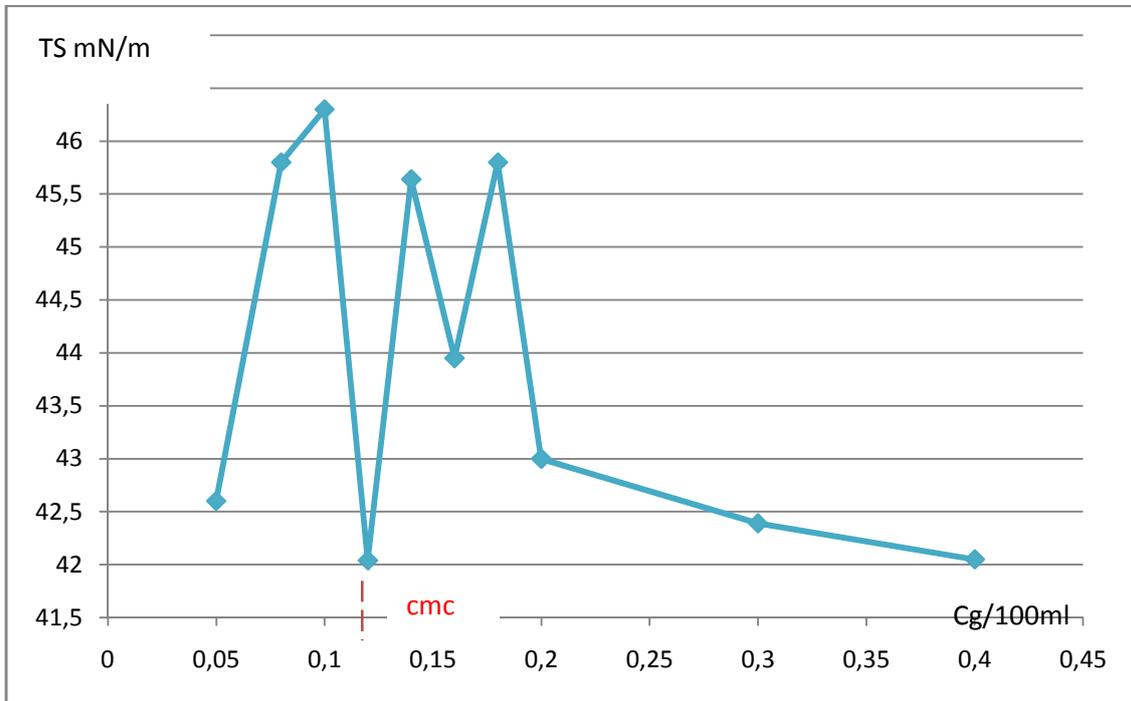


Figure 5-5 : Courbe de la variation de la tension superficielle en fonction de la concentration des solutions du *SapindusMukorossi*.

V.2. Résultats de la caractérisation du gel formulé avec l'extrait brut du *SapindusMukorossi* riche en Saponine:

Après avoir formulé les 2 gels avec les mêmes constituants et les mêmes concentrations, on a observé que le gel à base de saponine est beaucoup plus consistant même avant neutralisation avec le triéthanolamine et sa viscosité était beaucoup plus élevée que celle du gel à base de lauryl éther sulfate de sodium ce qui prouve qu'il a une activité viscosifiante due à la présence de sucres dans sa structure chimique. La caractérisation physico-chimique du gel est une étape très indispensable.

V.2.1. Mesure du pH et de la viscosité du gel :

Tableau 5-5 : valeurs du pH et de la viscosité des deux gels à base d'extrait riche en Saponine et de SLES.

Gel de l'extrait		Gel de SLES	
pH	Viscosité (cP)	pH	Viscosité (cP)

5.7	9400	6.19	4000
-----	------	------	------

La figure ci-dessous illustre l'aspect du gel avant la neutralisation



Figure 5-6 : Consistance du gel à base d'extrait avant neutralisation.

La mesure du pH avant neutralisation a donné la valeur de **3.42**, ce qui prouve sa nature acide.[39]

V.2.2. Résultats rhéologiques du gel :

- **Résultats du comportement rhéologique du gel à base d'extrait brut du *Sapindus mukorossi* riche en Saponine:**

Sur le graphe de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement à une échelle donnée en log en utilisant un logiciel STATISTICA, on remarque que la courbe d'écoulement du gel à base de l'extrait riche en Saponine a plusieurs comportements. On observe qu'il y a deux zones : Pour un cisaillement très faible allant jusqu'à $0.05s^{-1}$, la viscosité est constante donc c'est un comportement Newtonien (première région Newtonienne). Au-delà de $0.05s^{-1}$ la viscosité diminue donc le gel a subi une déstructuration de la structure, le comportement est rhéofluidifiant. La deuxième région Newtonienne où la viscosité redevient constante est absente car le rhéomètre ne peut dépasser un cisaillement plus que $1000s^{-1}$.

Pour la courbe d'écoulement qui présente un comportement Newtonien pour un très faible cisaillement, il y a deux modèles rhéologiques qui peuvent répondre à ce comportement : modèle structural de CROSS et le modèle structural de Carreau. Dans notre cas, on va utiliser le modèle de CROSS afin de déterminer les paramètres de notre gel.

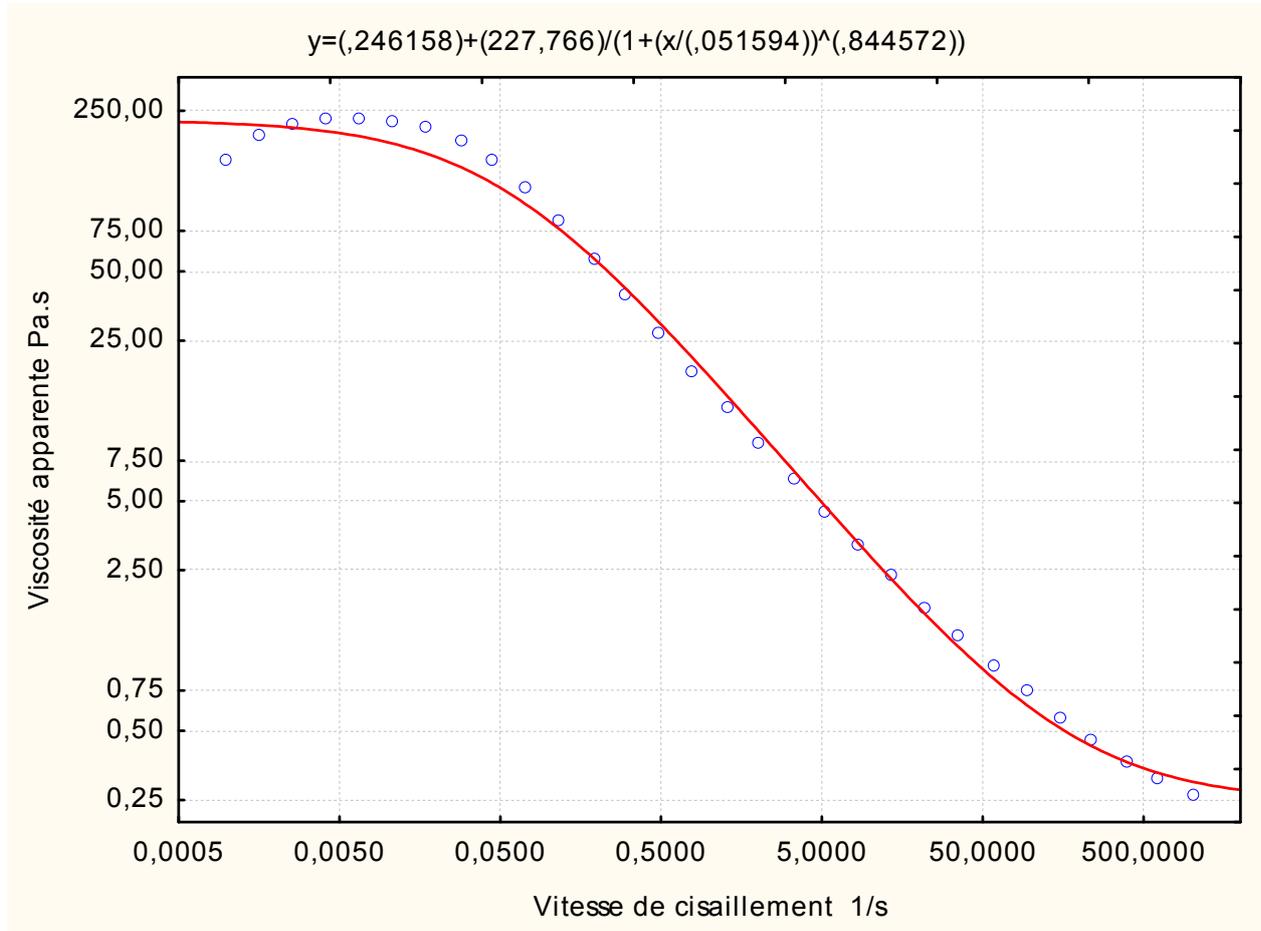


Figure 5-7 : Courbe d'écoulement du gel à base d'extrait brut du *SapindusMukorossi* riche en Saponine: La viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement.

Le modèle de CROSS est donné comme suit :

$$\eta = \eta_{\infty} + \frac{\eta_0 - \eta_{\infty}}{1 + (K\dot{\gamma})^n} \text{ [éq 5-2]}$$

Avec :

η_{∞} : Paramètre caractéristique de la deuxième région newtonienne (viscosité constante) (Pa.s).

η_0 : Viscosité du comportement newtonien à la première région Newtonienne (Pa.s).

K et n : Paramètres de CROSS où $\dot{\gamma} \cdot c = 1/K$ vitesse de cisaillement qui correspond à la déstructuration et le début du comportement rhéofluidifiant.

Le logiciel a donné les résultats suivants :

Tableau 5-6: Résultats des paramètres rhéologiques du gel de l'extrait brut du *SapindusMukorossi* riche en Saponine.

η_0 (Pa.s)	$\gamma \cdot c$ (s^{-1})	n
223	0.03	0.7

Avec R=96% facteur de Corrélation entre la courbe théorique et la courbe expérimentale en utilisant une méthode d'estimation de ROSENBROCK PATTERN SEARCH.

D'après les résultats, notre gel à base de Saponine est un fluide non Newtonien : sa viscosité dite apparente dépend de la contrainte ou de la vitesse de cisaillement.

- **Résultats du comportement rhéologique du gel à base de SLES :**

La courbe d'écoulement du gel à base de SLES montre également plusieurs comportements rhéologiques : Deux zones existent, pour un cisaillement très faible allant jusqu'à $0.04 s^{-1}$, la viscosité est constante donc c'est un comportement newtonien (première région newtonienne). Au-delà de $0.04s^{-1}$ la viscosité diminue donc le gel a subi une déstructuration de la structure donc le comportement est rhéofluidifiant.

Pour faire la modélisation, on a utilisé le modèle de CROSS également, le logiciel a donné les résultats suivants :

Tableau 5-7 : Résultats des paramètres rhéologiques du gel de SLES.

η_0 (Pa.s)	$\gamma \cdot c$ (s^{-1})	n
167,8399	0,013161	0,68

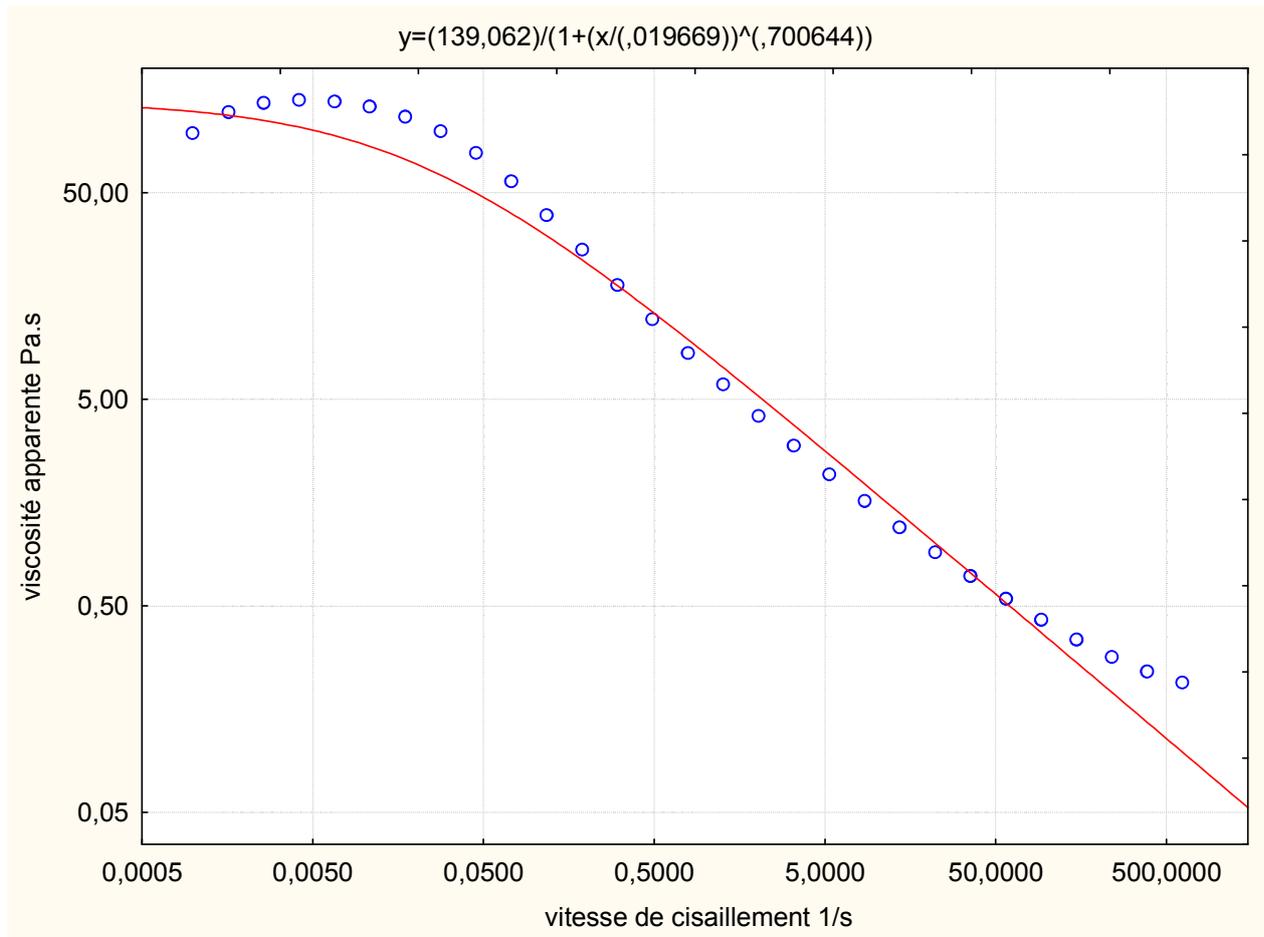


Figure 5-8: Courbe d'écoulement du gel à base de SLES : La viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement.

Avec $R=93\%$, en utilisant une méthode d'estimation de ROSENBROCK AND QUASI-NEWTON. Les résultats montrent que le gel de SLES est un fluide non-Newtonien.

En comparant les résultats des deux gels, $\gamma \cdot c$ du gel de Saponine est supérieure à celle du gel de SLES donc le gel à base de l'extrait riche en saponine, sa structure est plus rigide que celui de SLES ce qui veut dire qu'il est moins destructurable.

V.3. Résultats de l'analyse microbiologique :

V.3.1. Résultats du DGAT et DMLT :

Les résultats illustrés sur la figure ci-dessus confirment l'absence de toute contamination dans le gel à base de Saponine et dans le gel à base de SLES.



Figure 5-9 : Résultats du DGAT et DMLT.

V.3.2. Résultats de l'activité microbiologique de l'extrait brut du *SapindusMukorossi* riche en Saponine:

Les résultats illustrés dans tableau 5-8 ci-dessous montrent que l'extrait du *SapindusMukorossi* riche en Saponine manifeste une inhibition de la croissance de la bactérie *MicrococcusLuteus*, qui est une bactérie du sol, des poussières, de l'eau et de l'air et fait partie de la flore naturelle de la peau des mammifères. La bactérie peut aussi coloniser la bouche, les muqueuses, l'oropharynx et les voies respiratoires supérieures humaines, bien que *M. luteus* n'est pas pathogène et est considéré comme un contaminant naturel, cette bactérie pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés. *M. luteus* est résistant à un potentiel hydrique réduit et peut tolérer la dessiccation et de fortes concentrations salines.[58]

L'extrait du *SapindusMukorossi* riche en saponine inhibe également la croissance de la levure pathogène *Candida Albicans*, qui provoque la candidose cutanée.

Tableau 5-8 : Les diamètres de la zone d'inhibition de l'extrait brut du *SapindusMukorossi* dans l'éthanol riche en saponine.

Les microorganismes d'essai	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Escherichia Coli	Pas de résultats
Staphylococcus Aureus	Pas de résultats
MicrococcusLuteus	25
Candida Albicans	16



Figure 5-10 : Les zones d'inhibition de l'extrait brut du *SapindusMukorossi* riche en Saponine.

Chapitre V : Résultats et discussion

V.3.3. Résultats de l'activité microbiologique du gel de l'extrait brut du *SapindusMukorossiriche* en Saponine :

Les résultats de la figure 5-11 confirment que le gel à base de l'extrait riche en saponine a une activité antifongique contre la levure pathogène *Candida Albicans*, mais aussi il ya a une inhibition sur la croissance de la bactérie *MicrococcusLuteus* ce qui prouve qu'il a une activité antibactérienne sur certaines bactéries.

Tableau 5-9: Les diamètres de la zone d'inhibition du gel de l'extrait brut du *Sapindusmukorossi* riche en Saponine.

Les microorganismes d'essai	Le diamètre de la zone d'inhibition (mm)
Escherichia Coli	Pas de résultats
Staphylococcus Aureus	Pas de résultats
MicrococcusLuteus	25
Candida Albicans	19





Figure 5-11 : Les zones d'inhibition du gel à base de l'extrait brut du *Sapindusmukorossi* riche en Saponine.

Selon l'échelle de mesure de l'activité antimicrobienne du tableau ci-dessous qui a été mis au point et classe les diamètres des zones d'inhibitions de la croissance microbienne en 4 classes :

Tableau 5-10 : échelle de mesure de l'activité antimicrobienne

Classement des substances	Diamètre de la zone d'inhibition
Substances à fort effet inhibiteur.	Supérieure ou égal 28mm
Substances modérément inhibitrice.	Entre 28mm et 16mm
Substances légèrement inhibitrice.	Entre 16mm et 10 mm
substances non inhibitrice	Inférieure ou égal 10mm

Selon cette échelle, nous pouvons dire que notre extrait riche en saponines et notre gel ont :

- ✓ Un effet modéré sur *MicrococcusLutéus* et sur le *Candidat Albicans*.

Le gel formulé à base d'extrait du *SapindusMukorossi* présente des caractéristiques biologiques intéressantes qui peuvent être à l'origine de son application dans le domaine thérapeutique.

Conclusion générale

Le présent travail s'insère dans un projet national de recherche visant à la découverte de nouveaux produits naturels, Il s'intéresse particulièrement à l'effet antibactérien et antifongique, des substances extraites à partir du fruit du *Sapindusmukorossi*.

Les résultats de cette présente recherche ont permis d'apporter une contribution à la valorisation des extraits du *SapindusMukorossi* en tant que biosurfactant en raison de ses excellentes propriétés fonctionnelles étant biologiquement sûres, aussi qu'il soit adaptable sur le plan écologique. Ses propriétés fonctionnelles de base comme la concentration micellaire critique (CMC), l'activité émulsifiante ainsi que le pouvoir moussant de la poudre brut du fruit du *SapindusMukorossien* milieu aqueux ont été examinés. Les résultats trouvés sont satisfaisants en comparaison avec un tensio-actif synthétique commercial (SDS). L'étude met en évidence son utilisation économique comme surfactant vert en comparant les résultats avec un tensio-actif synthétique.

Les résultats de la valorisation des propriétés antibactériennes et antifongiques de l'extrait riche en Saponine utilisé comme principe actif dans un gel ont montré une inhibition modérée de la levure pathogène *Candida Albicans* responsable de la candidose, cette maladie est une infection de la peau ou des muqueuses et qui se manifeste différemment selon l'endroit où elle se développe généralement par des plaques rouges, des démangeaisons et parfois des croûtes et sortes de pustules et qui nécessite d'être traité pour éviter sa prolifération. Ce gel à base de saponine peut être donc une solution pour soulager cette infection.

Le gel à base de l'extrait éthanoïque du *SapindusMukorossi* riche en Saponine a également prouvé une inhibition modérée contre la bactérie *MicrococcusLuteus* qui n'est pas pathogène mais qui pourrait être un pathogène émergent engendrant des maladies nosocomiales chez des patients immunodéprimés.

De façon globale, l'analyse des différents résultats soulève des questions qu'il serait souhaitable d'étudier dans l'avenir. Il s'agit de :

- Etudier d'autres parties de l'arbre du *SapindusMukorossi* (noyau du fruit, feuilles)

- Comparer l'efficacité des différents extraits et faire d'autres méthodes d'extractions avec d'autres solvants.
- Etudier son activité émulsifiante avec d'autres huiles et comparer les résultats avec d'autres tensio-actifs synthétiques.
- Etudier son activité microbiologique sur d'autres microorganismes et avec différents extraits et différents solvants.
- Etudier sa concentration minimale inhibitrice sur le *Candida Albicans* et d'autres microorganismes.

Ce travail ouvre la voie à d'autres perspectives et d'autres études sur les différentes propriétés pharmacologiques du *SapindusMukorossi*.

A l'issue de cette étude, et vue les caractéristiques et l'efficacité de l'extrait issu de cet arbre, il est de notre devoir d'encourager le reboisement de cet arbre dans d'autres région de l'Algérie.

Références bibliographiques :

- [1] UPADHYAY A, SINGH D K. Pharmacological effects of *Sapindus mukorossi*. Journal of the São Paulo Institute of Tropical Medicine, 2012, Vol 54, n°5, pp 273-2.
- [2] RUPESHKUMARGHAGI, SUREKHA K SATPUTE, BALU A CHOPADE, ARUN GBANPURKAR. Science and Condensed Matter Physics. Center for Advanced Studies in Materials. Institute of Bioinformatics and Biotechnology, University of Pune, May 2011, India.
- [3] IBRAHIM M, KHAN AA, TIWARI SK, HABEEB MA, KHAJA MN, HABIBULLAH CM. Anti-microbial activity of *Sapindus mukorossi* and Rheummodi extracts against *Helicobacter pylori*: in vitro and in vivo studies. World J Gastroenterol, 2006.
- [4] GEYTER ED, GEELLEN D, SMAGGHE G. First results on the insecticidal action of saponins. Communications in agricultural and applied biological sciences, 2007.
- [5] RAHMAN SS, RAHMAN M, BEGUM SA, KHAN MMR, BHUIYAN MH. Investigation of *Sapindus mukorossi* extracts for repellency, insecticidal activity and plant growth regulatory effect. Journal of applied sciences research, 2007.
- [6] DHAR JP, BAJPAI VK, SETTY BS, KAMBOJ VP. Morphological changes in human spermatozoa as examined under scanning electron microscope after in vitro exposure to saponins isolated from *Sapindus mukorossi*. Contraception, 1989.
- [7] DWIVEDI AK, CHAUDHRY M, SARIN JPS. Standardization of a new spermicidal agent *Sapindus* saponin and its estimation in its formulation. Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 1990.
- [8] GARG S, TALUJA V, UPADHYAY M, TALWAR GP. Studies on contraceptive efficacy of Praneempolyherbal cream. Contraception, 1993.
- [9] MAN S, GAO W, ZHANG Y, HUANG L, LIU C. Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents. Fitoterapia, 2010.
- [10] IBRAHIM M, KHAJA MN, AARA A, KHAN AA, HABEEB MA, DEVI YP, ET AL. Hepatoprotective activity of *Sapindus mukorossi* and Rheummodi extracts: in vitro and in vivo studies. World J Gastroenterol, 2008.
- [11] CHAKRABORTY A, AMUDHA P, GEETHA M, SURJIT SINGH N. Evaluation of anxiolytic activity of methanolic extract of *Sapindus mukorossi* Gaertn. in mice. International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences, 2010.
- [12] HUANG HC, LIAO SC, CHANG FR, KUO YH, WU YC. Molluscicidal saponins from *Sapindus mukorossi*, inhibitory agents of Golden Apple snails *Pomacea canaliculata*. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2003.

- [13] UPADHYAY A, SINGH DK. Molluscicidal activity of *Sapindus mukorossi* and *Terminalia chebula* against the freshwater snail *Lymnaea acuminata*. *Chemosphere*. 2011.
- [14] SINGH A, SINGH VK. Molluscicidal activity of *Saraca asoca* and *Thuja orientalis* against the fresh water snail *Lymnaea acuminata*. *Vet Parasitol*, 2009.
- [15] SINGH S, SINGH VK, SINGH DK. Molluscicidal activity of some common spice plants. *Biological Agriculture and Horticulture*, 1997.
- [16] CHEN CY, KUO PL, CHEN YH, HUANG JC, HO ML, LIN RJ, ET AL. Tyrosinase inhibition, free radical scavenging, antimicrobial and anticancer proliferation activities of *Sapindus mukorossi* extracts. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 2010.
- [17] TSUZUKI JK, SVIDZINSKI TIE, SHINOBU CS, SILVA LFA, RODRIGUES-FILHO E, CORTEZ DAG, ET AL. Antifungal activity of the extracts and saponins from *Sapindus saponaria*. *Annals of the Brazilian Academy of Sciences*, 2007.
- [18] TANAKA O, TAMURA Y, MASUDA H, MIZUTANI K. Application of saponins in food and cosmetics: saponins of *Mohavea yucca* and *Sapindus mukorossi* Gaertn, saponins used in food and agriculture. (1996). New York Plenum Press, 1996, p 1-11.
- [19] TAKAGI K, PARK EH, KATO H. Anti-inflammatory activities of hederagenin and crude saponin isolated from *Sapindus mukorossi* Gaertn. *Chemical & pharmaceutical bulletin*, 1980.
- [20] VIRDI GS. The piscicidal properties of *Acorus calamus*, *Sapindus mukorossi* and *Xeromphisspinosa* on 7 species of fishes of North India. *Indian Journal of Physical and Natural Sciences*, 1982.
- [21] NI W, HUA Y, TENG RW, KONG YC, CHEN CX. New tirucallane-type triterpenoid saponins from *Sapindus mukorossi*. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2004.
- [22] CHEOK C Y, SALMAN H A K, SULAIMAN R. Extraction and quantification of saponins. *Food Research International*, 2014.
- [23] TAKEUCHI T M, PEREIRA C G, BRAGA M E M, MAROSTICA M R, LEAL P F, MEIRELES M A A. Low-pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound assisted) from condimentary plants. In: *Extracting bioactive compounds for food products – Theory and Applications*, ed. M.A.A. Meireles, 2009, pp 140–144, 151-158.
- [24] REICHARDT C, WELTON T. *Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry*. 4th Edn, pp 63-64, 219- 220, 443-457.
- [25] LEE S T, MITCHELL R B, GARDNER D R, WANG Z, AZADI P, HEISS C. Isolation, characterization, and quantification of steroidal saponins in Switchgrass (*Panicum virgatum* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009.

- [26] BART H-J. Extraction of natural products from plants-An introduction. In: Industrial scale natural products extraction. First Edition, Verlag: Wiley-VCH, 2011, pp. 1-26.
- [27] BIALY Z, JURZYSTA M, MELLA M, TAVA A. Triterpenesaponins from aerial parts of *Medicago arabica* L. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004.
- [28] BIALY Z, JURZYSTA M, MELLA M, TAVA A. Triterpenesaponins from the roots of *Medicago hybrid*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2006.
- [29] OLESZEK W A. Composition and quantitation of saponins in Alfalfa (*Medicago sativa* L. seedlings). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998.
- [30] ZHANG Z S, WANG L J, LI D, JIAO S S, CHEN X D, MAO Z H. Ultrasound assisted extraction of oil from flaxseed. *Separation and Purification Technology*. 2008.
- [31] HENG M Y, TAN S N, YONG J W H, ONG E S. Emerging green technologies for the chemical standardization of botanicals and herbal preparations. *Trends in Analytical Chemistry*, 2013.
- [32] TAKEUCHI T M, PEREIRA C G, BRAGA M E M., MAROSTICA M R., LEAL P F, MEIRELES M A A. Low-pressure solvent extraction (solid-liquid extraction, microwave assisted, and ultrasound assisted) from condimentary plants. In: *Extracting bioactive compounds for food products – Theory and Applications*. ed. M.A.A. Meireles, Boca Raton: CRC Press, 2009, pp 140– 144, 151-158.
- [33] ZHANG H F, YANG X H, WANG Y. Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants: Current status and future directions. *Trends in Food Science & Technology*, 2011.
- [34] MUSTAFA A, TURNER C. Pressurized liquid extraction as a green approach in food and herbal plants extraction: A review. *Analytica Chimica Acta*, 2011.
- [35] SUN H, GE X, LV Y, WANG A. Application of accelerated solvent extraction in the analysis of organic contaminants, bioactive and nutritional compounds in food and feed. *Journal of Chromatography*, 2012, pp 1-23.
- [36] MOTTALEB M A, SARKER S D, Chapter 4-Accelerated solvent extraction for natural products isolation. In: *Natural Products Isolation*, Maryville: USA, 2012, pp. 75-87.
- [37] AMIT GHUPTA. Department of Pharmacy Sunsari Technical College journal. Volume 1, Issue 1, octobre 2012.
- [38] DIPAK BHARGAVA, JAGADISH NARAYAN SHIVAPURI, SANJAY KAR, BIJAY RAJ PANDIT, AMRULLAH SIDHIQIE, AAHUTI UPADHYAY, SHIKHA THAKUR, KESHAB CHANDRA MONDAL. Evaluation of Antigonorrhoeal Activity of Saponins Extract of *Sapindus Mukorossi* Gaertn. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 2012, p.459.

[39] SIDRA-TUL MUNTAHA, M. NASIRUDDIN KHAN. Natural surfactant extracted from *Sapindus mukorossi* as an eco-friendly alternate to synthetic surfactant and a dye surfactant interaction study. *Journal of Cleaner Production*, 2015.

[40] RUPESHKUMAR GHAGI, SUREKHA K SATPUTE, BALU A CHOPADE ARUN G BANPURKAR. Study of functional properties of *Sapindus mukorossi* as a potential bio-surfactant. *Indian Journal of Science and Technology*, Vol 4, Mai 2011, pp 530-531-532.

[41] CHAO-HSUN YANG, YU-CHUN HUANG, YU-FEN CHEN, MING-HSIANG CHANG. Foam properties, detergentabilities and long-term preservative efficacy of the Saponins from *Sapindus mukorossi*. *Journal of Food and Drug Analysis*, Vol. 18, No. 3, 2010, P.156.

[42] CHABNI Malika. Thèse de doctorat : Etude de la stabilité physique des systèmes dispersés, Mai 2012.

[43] HENRY M. Haemolytic saponin extraction and purification method, 1995.

[44] BERNARD LE NEINDRE, PATRICK CANCOUËT. Liste des polymères synthétiques utilisés en cosmétique - Acrylate/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer, 10 sept 2011.

[45] BECKER LC, BERFGELD WF, BELSITO DV, KLAASSEN CD, LIEBLER DC, HILL RA, MARKS JG, SHANK RC, SLAGA TJ, SNYDER PW, ANDERSEN FA. Crosslinked Alkyl Acrylates as Used in Cosmetics. Final Safety Assessment. Novembre 2011.

[46] YITZHAK MARCUS. *The Properties of Solvents*, vol. 4, England, John Wiley & Sons Ltd, 1999, p 239.

[47] GOTTSCHALCK TE, BRESLAWEC HP. *International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*. 14 ed. Washington, DC: Personal Care Products Council, 2012.

[48] BUDAVARI S, ET O'NEIL M, *The Merck index : an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals*. 11th ed. Rahway (N.J.) : Merck, 1989.

[49] PERRIN R, SCHARFF J-P. *Utilisations industrielles des huiles et graisses*. In *Chimie Industrielle*, Ed. Dunod, Paris, 1999, p734-741.

[50] NATACHA MICHAYEWICZ. *L'Aloevera, plante médicinale traditionnelle et largement utilisée depuis des millénaires, aux nombreuses propriétés thérapeutiques*. Plante miracle, Thèse, Université de Lorraine, faculté de pharmacie, 2013.

[51] KURT KOSSWIG. "Surfactants" in *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, Wiley-VCH, 2005, Weinheim.

[52] MARSHALL R T. *Standard methods for the microbiological examination of dairy products*, 16th ed. American Public Health Association, 1992, Washington, D.C

- [53] CORRY JEL, CURTIS JDW, BAIRD RM. Handbook of culture media for food and water, 3rd edition, 2012, royal society of chemistry.
- [54] Pharmacopée Européenne 2.6.13. Contrôle microbiologique des produits non stériles : Recherche de microorganismes spécifiques. Solution et milieu de culture recommandés.
- [55] DAGUET G L, CHABBERT Y A. Techniques en bactériologie. 3. Sérologie bactérienne, antibiotiques en bactériologie médicale. Ed. Flammarion, Paris, 1972.
- [56] Pharmacopée européenne 8^{ème} édition. Qualité microbiologique des préparations pharmaceutiques et des substances pour usage pharmaceutique non stérile, p 601.
- [57] COURVALIN P, GOLDSTEIN F, PHILIPPON A, ET SIROT J.L'antibiogramme. 1995, MPC.Bruxelles.
- [58] MADIGAN M, MARTINKO J, Brock Biology of Microorganisms, Prentice Hall, 2005.
- [59] Pillet M. Appliquer la maîtrise statistique des processus MSP/SPC, 2005. Editions d'Organisation, Paris.
- [60] Ryan T.P. Statistical methods for Quality Improvement. 2000. Ed. Wiley, New York.
- [61] P. WERLE. Pharmacie galénique. Formulations et technologies pharmaceutiques. (2007). P 205-206-207.

ANNEXE 1

Photos des différents appareils utilisés dans cette étude



Annexe 1 : Balance analytique KERN 220-5DM.



Annexe 2 : Agitateur magnétique STUART US152.



Annexe 3 : Tamiseur vibrant ERIMAKI.



Annexe 4 : Rotavapor HEIDOLPH LABOROTTA 4001.



Annexe 5 : Centrifugeuse ROTINA35 HETTICH ZENTRIFUGEN.



Annexe 6 : Conductimètre et pH mètre HANNA HI 2550.



Annexe 7 : Vortex VWR VV3.



Annexe 8 : Agitateur à hélice IKA EUROSTAR 20.



Annexe 9 :Tensiomètre GIBERTINI TSD.



Annexe 10 : Rhéomètre ANTON PAAR MCR 302.



Annexe 11 : Viscosimètre BROOKFIELD.