

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



Université Ibn Khaldoun–Tiaret

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Masteracadémique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Infectiologie

Présenté par :

-GUELLIL Saliha

-LAOUNI Nassiba

-MEGHIT Imane

Thème

**Etude de l'activité antimicrobienne et formulation
d'un shampoing naturel de *Sapindus mukorossi***

Soutenu publiquement le

Jury:

Président: YEZLI WASSIM

Encadreur: RAHMOUNE BILAL

Examineur: MEZOUAR DJAMILA

Grade

.MCB

.MCB

MCB

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Tout d'abord, on tient à remercier Dieu le tout puissant, de nous avoir donnée la force, la patience et le courage pour réaliser ce travail.

En second lieu, on remercie chaleureusement notre encadreur Monsieur **le docteur RAHMOUNE Bilal**, de nous avoir données la possibilité de réaliser ce travail sous son suivie et pour le temps qu'il nous a consacré, sa patience, ses précieux conseils, son soutien tout le long de la réalisation de notre mémoire ainsi que pour son gentillesse, son bienveillance et ses qualités profondément humaines qui ont été remarquables.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury de ce mémoire qui ont accepté de juger ce travail :

Un merci particulier à Monsieur le docteur **YEZLI Wassim**, de nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de notre mémoire.

Un merci particulier à l'examinatrice de ce mémoire Mme docteur **MEZOUAR Djamila**, pour avoir accepté d'examiner et évaluer notre travail.

Nous tenons à remercier aussi les ingénieurs des laboratoires de microbiologie et de technologie alimentaire de l'Université Ibn Khaldoun -Tiaret, qui ont contribué au bon déroulement des travaux pratiques de ce mémoire.

Un grand remerciement pour tous nos enseignants pour leurs contributions dans notre cursus universitaire au département de Microbiologie, faculté de la science de la nature et de la vie, université Ibn Khaldoun, Tiaret.

Dédicaces

Aux êtres les plus chers à mon cœur

*Mon père et ma mère, qui ont consacré leur noble existence à bâtir
ma miennne.*

*De ma vie je ne saurai assez leur exprimer mon affection, ma
reconnaissance et mon amour.*

*A mon chère frère **Ahmed**, pour tous les pleins qu'ils ont donné pour ma
réussite.*

Qu'Allah l'accueille dans son vaste paradis.

*A mes adorables frères **Salah**, **Yassin** et **Youcef**, **Ben Hlima**, qui ont été
toujours là à mes côtés, qui m'ont aidé en toute étape de ma vie.*

*A ma chère sœur, **Samia**, **Khouloud** et **Rania** qui font une partie de
mon bonheur.*

*A ma chère cousine ma binôme et ma jumelle de cœur **Nadjat**, avec
grandit, et que je partage ce moment si précieux.*

*A tout ma famille, oncles et tantes, cousins et cousines, petit et grand,
sans exception.*

*A tous mes amis, et toute personne que je connais, a toute la
promotion Master II Infectiologie 2019.*

Nassiba

Dédicace

A mes chers parents avec tout mon amour

*Je dédie cette mémoire en premier à **mon père**.*

Tous les mots ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance pour ton dévouement et le sacrifice, tu as toujours été à mes côtés mes soutenir et m'épauler.

Je dédie cette mémoire, puisse tu trouver le fruit de tes efforts.

*A ma très **chère mère**, pour tous les pleins qu'elle s'est donné pour ma réussite, son soutien, sacrifice et sa première.*

Qu'Allah l'accueille dans son vaste paradis.

*A mes adorables frères **Boualam, Mokhtar, AEK, Lahsan**, qui mon aidé à tout étape de ma vie.*

*A mes chères sœurs **Rania, Anfele, Ritage**, qui font une partie de mon bonheur.*

*A mon fiancé **Saïd**, qui a su du loin m'encourager et me soutenir.*

*Ames amis proches **Amína, Khadîdja, Bachair**, qui mon apparaît beaucoup de chose et qui m'a toujours encouragé.*

A tous mes amis, et toute personne que je connais, a toute la promotion Master II Infectiologie 2019.

Imane

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail :

A tous qui sont proches de mon cœur.

A mon père qui a perfectionné mon éducation, qui m'a appris la persévérance et ma soutenu et encouragé .Qu'Allah l'accueille dans son vaste paradis.

A ma très chère mère, pour toutes les peines qu'elle s'est donné pour ma réussite, son soutien, sacrifice et sa prière.

Qu'Allah la compense .

A ma chère sœur Khadidja, Mes frères Khaled, Ibrahim, Ahmed Abdelhadi, Abdelhfidh A tous mes amis, et toute personne que je connais, a toute la promotion Master II Infectiologie 2019

Salha

Liste d'abréviation

A. Aminé : Acide Aminé

ATCC : American Type Culture Collection

C.albicans : *Candida albicans*

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

(CH₃CO)₂O : Anhydride acétique

CUSO₄ : Sulfate de cuive

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EAcOEt : Extrait Acétonique

EEtOH : Extrait éthanolique

E.coli : *Escherichia coli*

EMeOH : Extrait méthanolique

FeCl₃ : Chlorure Férique

H₂SO₄ : Acide sulfurique

Hcl : Acide chloridrique

LPS : Lipopolysaccharides

M-H : Mueller Hinton

NH₄OH : hydroxyde d'ammonium

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

S.mukorossi : *Sapindus mukorossi*

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

S.cerviceae : *Saccharomyces cerviceae*

SM : Solution mère

Liste des figures

Figure 01. <i>Sapindus mukorossi</i>	03
Figure 02. Répartition géographique de <i>Sapindus mukorossi</i>	05
Figure 03. Arbuste et feuilles de <i>Sapindus mukorossi</i>	06
Figure 04. Fleurs deS Aspect des fruitset des grainsde <i>Sapindus mukorossi</i>	07
Figure 05. Structure dessaponines titerpéniques.....	10
Figure 06. Structure dessaponinessteroids.....	10
Figure 07. Différentes étapes pour la preparation des extraits de <i>Sapindus mukorossi</i>	18
Figure 08. Test de detectiondesalcaloïdes.....	19
Figure 09. Test dedétectiondes saponines.....	19
Figure 10. Test de detectiondesacidesamines.....	20
Figure 11. Testde mouillage.....	25
Figure 12. Protocolexperimental.....	27
Figure 13. Différents testsphytochimique.....	30
Figure 14. Activité antibactérienne de <i>Sapindusmukorossi</i>	33
Figure 15. Activité antifongique de l'extrait de <i>Sapindusmukorossi</i>	36
Figure 16. Deuxshampooingformulés.....	38
Figure 17. Volume de moussedesshampooing.....	39

Liste des tableaux

Tableau 01. Comparaison des ingrédients utilisés dans un produit Cosmétique classique (chimique) et produit cosmétique bio.....	15
Tableau 02. Composition du deux shampoings aux herbes formulé.....	24
Tableau 03. Caractéristiques organoleptiques des extraits éthanoliques; méthanoliques ; acétonique.....	28
Tableau 04. Analyse phytochimique des extraits de <i>Sapindus mukorossi</i>	29
Tableau 05. Activité antimicrobienne des extraits des <i>sapindus mukorossi</i>	31
Tableau 06. Diamètres des zones d'inhibition des extraits à différents concentration obtenus avec <i>E.coli</i> et <i>S.aureus</i>	32
Tableau 07. Concentration minimales inhibitrices des extraits de <i>S. mukorossi</i> sur la souche bactérienne <i>S.aureus</i>	33
Tableau 08. Les zones d'inhibition des extraits à différentes concentration sur <i>C.albicans</i> et <i>S.cervicia</i>	35
Tableau 09. Concentration minimales des extraits de <i>S.mukorossi</i>	37
Tableau 10. Caractéristiques physique des shampoings formulés.....	40

Liste des annexes

- Annexe A** Appareillage, milieu de culture, verrerie et réactifs
- Annexe B** Composition des milieux des cultures
- Annexe C** Photos de l'activité antimicrobienne
- Annexe D** Préparation *S.cervicæe*, DMSO, Eau physiologie, Réactive de Wigner

Table des matières

Liste d'abréviation

Liste des figures

Liste des Tableaux

Introduction2

Chapitre I : Généralités sur *Sapindus mukorossi*

1. Généralités sur *Sapindus mukorossi*.....3

1. 1. Taxonomie de la plante.....4

1. 2. Répartition Géographique.....5

1.3 Etymologie.....5

1.4. Description botanique.....6

Chapitre II : Composition, Propriétés phytochimique et biologiques du fruit de *Sapindus mukorossi*

2. Composition, Propriétés phytochimique et biologiques du fruit de *Sapindus mukorossi*.....8

2.1. Composition phytochimique.....8

2.1.Mucilages.....8

2.1.2. Saponines.....9

2.1.1. Classification des saponines.....9

2.1.1.1. Saponines à génines triterpénénoïdes.....9

2.1.1.2. Saponines à génines stéroïdiques.....10

2.2. Propriétés biologiques de *Sapindus mukorossi*.....11

2.2.1. Activité antibactérienne.....11

2.2.2. Activité cytotoxique et antitumoral.....	11
2.2.3. Activité hémolytique.....	11
2.2.4. Activité fongicide.....	12
2.2.5. Activité insecticide.....	12

Chapitre III :Les produits cosmétiques naturels

3.1. Définition d'un produit cosmétique.....	13
3.2. Produits cosmétiques d'origine chimique.....	14
3.3. Produits cosmétiques d'origine biologique.....	14
3.4. Shampoings.....	14

Chapitre IV : Matériels et méthodes

Objectifs du travail.....	16
Lieu et période d'expérimentation.....	16
4.1. Matériels.....	16
4.1.1. Matériel végétal.....	16
4.1.2. Matériel micro biologiques.....	16
4.1.3. Matériel dans laboratoire.....	17
4.2. Méthodes.....	17
4.2.1. Préparation des extraits.....	17
4.2.2. Détermination du rendement en extraits.....	18
4.2.3. Screening phytochimique des extraits.....	18
4.2.3.1. Détection des alcaloïdes.....	19
4.2.3.2. Détection des saponines.....	19
4.2.3.3. Détection des acides aminés.....	19

4.2.3.4. Détection des stérols.....	20
4.2.3.5. Détection des composés phénoliques... ..	20
4.2.3.6. Détection des flavonoïdes.....	20
4.2.3.7. Détection des phlobatanins.....	20
4.2.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits.....	20
4.2.4.1. Prés identification des souches microbiennes utilisées	21
4.2.4.2. Aromatogrammes.....	21
4.2.4.2.1. Préparation de l'inoculum des microorganismes	21
4.2.4.2.2. Méthode des diffusions des disques.....	22
4.2.4.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	23
4.2.5. Formulation et évaluation d'un shampoing naturel à base de <i>Sapindus mukorossi</i>	23
4.2.5.1. Préparation d'extraits de plantes.....	24
4.2.5.2. Formulation des shampoings.....	24
4.2.5.3. Évaluation des shampoings formulés et commercial.....	25
4.2.5.3.1. Aspect physique / inspection visuelle.....	25
4.2.5.3.2. Capacité moussante.....	25
4.2.5.3.3. Test de temps de mouillage.....	25
4.2.5.3.4. Détermination du pH	25
4.2.5.3.5. Temps de dispersion de saleté.....	26
4.3. Protocole expérimental.....	27
 Chapitre V : Résultats et discussion	
5. 1. Taux d'extraction.....	28
5. 2. Screening phytochimique des extraits.....	29

5. 3. Activité antimicrobienne.....	31
5. 3. 1. Détermination des CMI des extraits <i>S.mukorossi</i>	33
5. 3. 2. Effet antibactériens des extraits de <i>S. mukorossi</i> sur <i>C.albicans</i> et <i>S.cervisiae</i>	34
5. 3. 2. 1. Détermination des CMI des extraits <i>S.mukorossi</i>	36
5. 4. Formulation des shampooings aux herbes.....	37
5. 4. 1. Evaluation des shampooings.....	38
5. 4. 1. 1. Aspect physique / inspection visuelle.....	38
5. 4. 1. 2. Détermination de pH.....	38
5. 4. 1. 3. Capacité moussante et stabilité mousse.....	39
5. 4. 1. 4. Temps de mouillage.....	39
Conclusion	41
Références bibliographiques	42

Annexes

Résumés

Introduction

Depuis l'antiquité, l'Homme, pour traiter et pour soigner les maladies, a utilisé plusieurs types de plantes trouvées dans son milieu naturel, ces plantes contiennent plusieurs composés naturels actifs attribués aux métabolites secondaires qui possèdent un très large éventail d'activité biologique. Dans la majorité des cas, ces substances secondaires ont un mécanisme de défenses chimiques contre les micro-organismes (**Mazari et al., 2010**).

Les infections humaines causées par des champignons et des bactéries sont augmentées considérablement dans les dernières années (**Fiori et al., 2013**). Ce qui constitue un problème de santé publique à cause de leurs fréquences et leurs dégâts. De même, l'échec de l'antibiothérapie est parmi les événements non souhaitables survenant lors des traitements de diverses pathologies telles que les maladies infectieuses, ces échecs sont généralement au développement de résistances aux antibiotiques par les microorganismes. Plusieurs études suggèrent que les remèdes de médecine alternative, par les plantes médicinales, sont révélés être des éliminateurs sûrs et efficaces de ces infections. Les plantes médicinales restent le premier réservoir de nouveaux médicaments. Elles sont considérées comme une source de matière première essentielle pour la découverte de nouvelles molécules nécessaires à la mise au point de futurs médicaments (**Maurice, 1997**). Ces plantes présentent une source inépuisable de métabolites secondaires utilisés dans les fragrances, l'agroalimentaire et l'industrie pharmaceutique (**Sasson, 1992**). Selon l'OMS, en environ de 80 % de la population mondiale, surtout dans les pays non développés, utilise les plantes médicinales pour guérir diverses maladies. Ce taux très élevé, peut être expliqué par l'efficacité thérapeutique de ces remèdes naturels prouvée au sein de la population, leur disponibilité immédiate, leur faible coût, et notamment après l'augmentation des effets secondaires nocifs des médicaments (**Schlienger, 2014**).

Sapindus mukorossi Gaertn., un membre de la famille Sapindaceae, est couramment connu sous plusieurs noms, en Inde, tels que noisette, savane, reetha, et sabone dzair (dans la région d'Alger). C'est un arbre à feuilles caduques largement cultivé dans les régions tropicales et subtropicales d'Asie (**George et Shanmuga, 2014**). Les fruits de *Sapindus*, à cause de sa richesse en saponines, présentent plusieurs effets pharmacologiques, anti-inflammatoires, antimicrobiens, des effets anthelminthiques, anti-dermatophytes (**Chen et al., 2010**). De plus, ces fruits sont caractérisés par leurs propriétés moussantes distinctes. Ils sont également très utilisés dans les industries détergentes et cosmétiques.

Les shampoings sont probablement les produits cosmétiques les plus utilisés pour nettoyer les cheveux et le cuir chevelu dans notre vie quotidienne (**Mainkar, A et al., 2001**).

Un shampoing est une solution d'un détergent contenant des additifs appropriés pour d'autres avantages tels que l'amélioration du conditionnement des cheveux, la lubrification, l'action moussante. Mais, leurs utilisations régulières conduites à la sécheresse et à la chute des cheveux, à une irritation du cuir chevelu et des yeux (Potluri et al., 2013). Actuellement, les formulations à base de plantes sont considérées comme une alternative au shampoing synthétique. Il existe un grand nombre de plantes médicinales, y compris le *Sapindus*, qui sont censés avoir des effets bénéfiques sur les cheveux et sont couramment utilisés dans la formulation de shampoing (Shinde et al., 2013).

La présente étude s'inscrit dans le but d'apporter une meilleure connaissance sur les fruits de *Sapindus mukorossi*. Elle a comme objectifs (i) d'évaluer de l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) des fruits de *Sapindus mukorossi* (ii) de formuler deux shampoings biologique (le 1^{er} à base de *Sapindus* seulement et le 2^{eme} à base de *Sapindus* & *Daphne gnidium*) et enfin, (iii) d'évaluer et comparer les propriétés physicochimique des shampoings formulés avec un shampoing commercial.

Ainsi, ce travail s'articule autour de trois grandes parties :

- La première partie est une synthèse bibliographique qui donne une présentation générale de l'espèce utilisée '*Sapindus mukorossi*', leur effets biologiques et thérapeutiques et sur les produits cosmétiques naturels et leur importance.
- La deuxième partie décrit les méthodes et les matériels utilisés lors des différentes parties expérimentales.
- La troisième partie expose tous les résultats obtenus. S'ensuit une discussion de l'ensemble des résultats et une conclusion générale où quelques perspectives ont été suggérées.

Chapitre I

Généralité sur *Sapindus mukorossi*

1. Généralités sur *Sapindus mukorossi*

Sapindus mukorossi (**Fig.1**) est un arbre appartenant à la famille des *sapindaceae*, cette famille comprend environ 2000 espèces (**Rao et al., 2012**). Elle a des feuilles caduques, et elle est largement cultivée dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie, et le nord de l'Inde, dans les étendues les plus humides au pied de l'Himalaya, jusqu'à 1500m d'altitude (**Attri et al., 2017**). Le fruit est couramment connu sous le nom de la noix de lavage, le ritha, le reetha et le dodan, dans l'Inde (**Aneja et al., 2010**). Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle pour traiter de nombreuses maladies telles que l'eczéma, la carie dentaire et plusieurs infections bactériennes...etc. Aussi, elle est très riche en saponines ayant des propriétés moussantes importantes. Ils sont également ajoutés aux shampoings, aux détergents liquides, aux dentifrices et aux boissons comme émulsifiant et agent moussant de longue durée (**Upadhyay et Singh, 2012**).



Figure 1 : *Sapindus mukorossi*(<https://jardinage.ooreka.fr>)

1.1. Taxonomie de la plante

Selon **Suhagia et al. (2011)** La classification botanique de la plante de *Sapindus mukorossi* est donné comme suite :

Règne : *Plantae*

Classe : *Equisetopsida*

Ordre : *Rosanae*

Ordre : *Sapindales*

Famille : *Sapindaceae*

Genre : *Sapindus*

Espèce : *Sapindus mukorossi Gaertn*

1.2. Répartition Géographique

➤ Dans le monde

Sapindus mukorossi est une espèce, originaire d'Asie, largement distribuée de l'Inde jusqu'au Japon (**Fig.2**). C'est une espèce de zones ouvertes en climat pluvieux. Malgré son origine subtropicale, cet arbre de petit développement montre une grande tolérance aux conditions de culture et une certaine faculté d'adaptation (**Varun et al., 2017**).



Figure 02 : Répartition géographique de *Sapindus mukorossi* (Varun et al., 2017).

➤ **En Algérie**

Le *Sapindus* a été acclimaté dans divers pays. Autour de la Méditerranée, on le trouve principalement en Algérie. L'administration coloniale française préconisait, au début du XXe siècle, l'intensification du *Sapindus* en Algérie (Journal la Quinzaine Coloniale de juin 1908). En Algérie, les fruits sont vendus dans les drogueries pendant la guerre (1942/1945) ou le savon faisait défaut. A Alger, le *Sapindus*, se trouve actuellement au niveau de quelques établissements tels que, la faculté centrale d'Alger, l'hôpital Mustapha Bacha et à l'Ecole nationale supérieure agronomique et on le trouve aussi dans le Jardin d'essai d'El Hamma. A Sidi Bel-Abbés, la plante a fait son apparition au niveau de l'école d'agriculture (actuellement Rectorat de l'université) et du jardin public vers 1930. Ces arbres ont été plantés par JEAN PAUL Théo professeur à l'école d'agriculture.

1.3.Etymologie

Selon **Quattrocchi (2012)**, le fruit *Sapindus mukorossi*, a plusieurs appellations selon les pays. Il est nommé comme suit :

- En inde : reetha
- Dans la chine : wuhuanzi
- Au Népal : ritha
- Au Japon : mukuro-ju

En Algérie, le fruit de cette plante porte le nom « Sabone Dzair » dans la région d'Alger et en Kabylie.

1.4.Description botanique

Sapindus mukorossi ou l'arbre à savon, est un arbre largement cultivé dans les parties supérieures des indo-gangétiques, des Shivaliks et des régions sous-himalayennes à des altitudes comprises entre 200 et 1500 m. Il forme un tronc court et une cime arrondie et mesure de 4 à 15 m de haut selon l'endroit où il pousse. Les feuilles alternes, caduques ou persistantes (**Fig.3**) en fonction du climat, sont composées de 14 à 30 folioles disposées de part et d'autre d'un axe central. La foliole terminale est souvent absente. En climat tempéré, le feuillage vert foncé mat prend une très jolie teinte jaune orangé à l'automne avant de chuter (**Aneja et al., 2010**).



Figure 03 : Arbuste et feuilles de *Sapindus mukorossi* (A. B)

Les fleurs (**Fig.4**) de 3 mm paraissent en panicules crème de 15 cm de diamètre, en extrémité de rameau et sont constituées de 5 pétales et de nombreuses étamines. La floraison a lieu en fin de printemps. Elle donne naissance à un chapelet de billes vert clair devenant marron rouge brillant en séchant, de 1 à 2 cm de diamètre. Il s'agit de drupes, des fruits à gros noyau central entouré d'une pulpe, appelée péricarpe, que l'on sépare du noyau pour son utilisation en noix de lavage.



Figure 04 : Fleurs de *Sapindus mukorossi* (<https://jardinage.ooreka.fr>)

Les fruits sont des noix rondes de 2-2.5 cm de diamètre, charnu, de couleur brun jaunâtre, et contient à l'intérieur une graine de 0.8 à 1.3 cm de diamètre (**Fig.5**).

La noix contient des saponines, une substance qui devient mousseuse au contact de l'eau, et se comporte en véritable détergent naturel antibactérien et hypoallergénique que l'on peut ajouter dans le lave-linge pour remplacer la lessive (**Vipasha, 2017**).



Figure 05 : Aspects des fruits et des graines de *Sapindus mukorossi* (original)

Chapitre II

Composition, propriétés phytochimique et
biologiques des fruits de *Sapindus mukorossi*

2. Composition, Propriétés phytochimique et biologiques du fruit de *Sapindus mukorossi*

Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments. Ce développement constitue une étape indispensable pour l'essor de tout un secteur lié aux besoins non seulement de la thérapie, mais aussi de l'industrie agroalimentaire, de la cosmétique et de la parfumerie. Les produits naturels sont traditionnellement utilisés pour lutter contre diverses maladies car ils sont à l'origine de nombreux composés actifs présentant de multiples effets thérapeutiques en plus ils constituent des modèles pour la synthèse d'un grand nombre de produits pharmaceutiques.

Les plantes sont également utilisées pour leurs propriétés antioxydante, anti-inflammatoire, antibactérienne et antifongique. Cependant, en tant que sources de médicaments, plusieurs plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale. Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes. Actuellement, le potentiel thérapeutique des produits végétaux est reconsidéré et les études qui leurs sont consacrées abondent dans la bibliographie.

Sapindus mukorossi, est considéré parmi les plantes les plus utilisées dans la phytothérapie surtout en Inde. Elle est utilisée en médecine traditionnelle comme expectorant, émétique, contraceptif, pour le traitement de la salivation excessive, de la chlorose et des migraines (Suhagia et al., 2011).

2.1. Composition phytochimique

Dans la phytothérapie et la pharmacologie, les études phytochimiques sont nécessaires pour l'isolement, la purification et caractérisation de composés biologiques actifs, dans les plantes.

Cette espèce (*Sapindus*) n'a fait l'objet que de quelques études phytochimique et phytothérapeutique, de rares travaux scientifiques sont publiés sur le profilage et la composition métaboliques de cette plante. Les principaux composants du fruit de *Sapindus mukorossi* sont les sucres à une teneur de (10%), les mucilages et les saponines (10 à 11.5%) (Upadhyay et Singh, 2012).

2.1.1. Les mucilages

Les mucilages se sont des complexes polysaccharidiques de sucre et d'acide uronique, généralement formés à partir de la paroi cellulaire (Shah et Seth, 2010). Elles possèdent un noyau résistant à l'hydrolyse, constitué d'acides uroniques, unis à des oses fortement fixés et également associés à des oses relativement labiles.

Plusieurs caractères permettent de les différencier des substances chimiquement voisines, les pectines et les gommés. Les mucilages se dissolvent plus au moins au contact de l'eau pour former des solutions colloïdales ou des gels (**Bruneton, 2012**).

2.1.2. Les saponines

Les saponines sont les substances actives les plus importantes dans cette plante, et sont des métabolites secondaires hétérosidiques, fréquents rencontrés chez les végétaux supérieurs en particuliers chez les dicotylédones. Le nom saponosides est dérivé du mot latin « sapo » qui veut dire savon, qui évoque le caractère moussant de leur solution aqueuse (**Boutaghane, 2013**). Ces substances se forment généralement d'une partie aglycone appelée la génine et une partie osidique, acide organiques (**Bruneton, 1999**). La partie osidique est la plus souvent inactive, tout en exerçant un effet favorable sur la solubilité du glucoside et son absorption. L'effet thérapeutique est déterminé par la seconde partie (**Boutaghane, 2013**).

Les plantes à saponines, telle que la saponaire (*Saponaria officinalis*), la noix de lavage (*Sapindus mukorossi*), ou le bois de Panama (*Quillaja saponaria*), ont été recherchées pour leurs propriétés détergentes (**Bechlem, 2018**), et ont été aussi recherchées par l'industrie pharmaceutique par ce qu'elles forment le point de départ pour l'hémi-synthèse des médicaments stéroïdiens (**Mors et al., 2004**). Elles présentent plusieurs propriétés pharmacologiques et sont employées dans la phytothérapie et dans l'industrie cosmétique.

2.1.2.1. Classification des saponines

Les saponines sont classés en deux groupes selon la nature de leur génine qui peut être soit :

2.1.2.1.1. Les saponines à génines triterpéniques

Ils constituent la majorité des sapogénines des angiospermes dicotylédones (-liaceae, Caryophyllaceae, Cucurbitaceae, Primulaceae, Rosaceae...etc). (**Sparg et al, 2004**). Ce sont des glycosides végétaux qui moussent dans l'eau et qui sont utilisés dans les détergents, comme agent moussant ou émulsifiants et ont d'énormes implication médicinales. Les saponines triterpéniques sont généralement des dérivés de la B-amyrine et certains sont également des dérivés de l'a-amyrine et du lupéol. Son noyau triterpénoïde penta cyclique est lié au sucre ou à l'acide uronique (**Fig.6**).

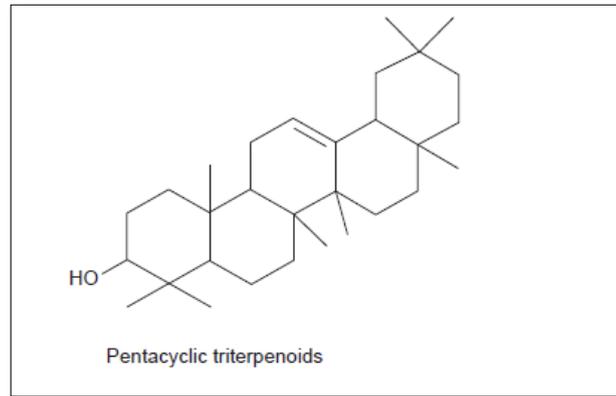


Figure 06 : Structure des saponines triterpéniques

2.1.2.1.2. Les saponines à génines stéroïdiques

Ils sont presque exclusivement présents chez les angiospermes monocotylédones (Alliaceae, Agavaceae, Fabaceae, Solanaceae, Plantaginaceae) possèdent un squelette de 24-29 atomes de carbone de type Pentacyclique furostane (H) ou de type Hexacyclique (**Fig.7**). Ils sont similaires aux sapogénines et liées aux glycosides cardiaques. Les saponines stéroïdes ont la capacité d'interagir médicalement et avantageusement avec les glycosides cardiaque, les hormones sexuelles, la vitamine D et d'autre facteurs, conférant à ces composants phytochimiques une grande importance médicale (**Shah et Seth, 2010**).

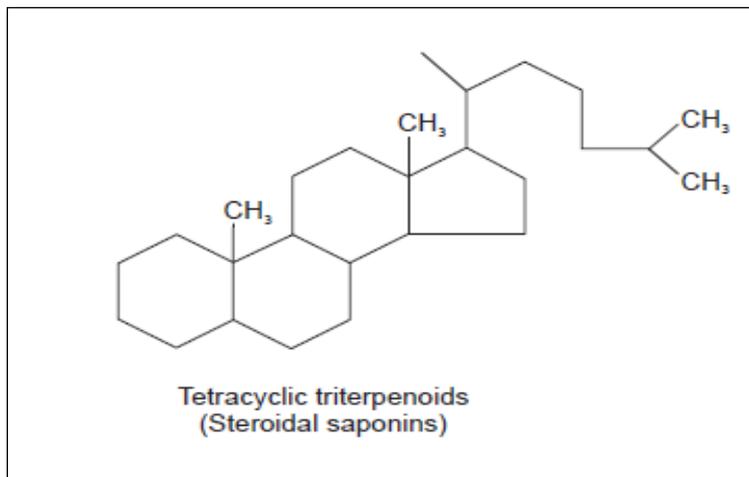


Figure 07 : Structure des saponines à génines stéroïdiques

2.2. Propriétés biologiques de *Sapindus mukorossi*

Reconnues pour avoir un fort potentiel pharmacologique, les saponines ; substances majoritaires extraites des fruits du *Sapindus mukorossi* ont été intensivement étudiées au cours des dernières années (**Francis et al., 2002**).

Les saponosides à génines stéroïdiques et triterpéniques exercent des activités biologiques très variées telles que :

2.2.1. Activité antibactérienne

Une étude réalisée par **Ibrahim et al., (2006)** a montré que les extraits à l'éthanol et au chloroforme de *Sapindus mukorossi* inhibaient la croissance d'*Helicobacter pylori*, à de très faibles concentrations, lorsqu'ils étaient administrés par voie orale pendant sept jours à des rats mâles. Dans l'étude *in vitro*, les isolats montrent une zone d'inhibition considérable à très faible concentration (10 ug /ml) et dans l'étude *in vivo*, l'infection à *Helicobacter pylori* a été résolue avec des extraits à la dose minimale de 2.5 mg/ml.

2.2.2. Activité cytotoxique et antitumoral

De nombreuses saponines possèdent une activité cytotoxique *in vitro* en vers une grande variété de lignées cellulaires cancéreuses. Les valeurs d'IC 50 mentionnées dans la littérature varient entre environ 4 ng/ml à 20 ug/ml en fonction de la nature des saponines et la lignée cellulaires (**Lacaille-Dubois, 2000**).

Il existe plus de 11 classes distinguées de saponines, se sont révélés bénéfiques pour l'inhibition de l'angiogenèse tumorale en supprimant son inducteur dans les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, puis pour la prévention de l'adhésion, de l'invasion et de la métastase des cellules tumorales (**Upadhyay et Singh, 2012**).

2.2.3. Activité hémolytique

Depuis longtemps les saponines sont reconnues pour leur capacité à induire la formation des pores au travers des membranes cellulaires et ainsi entrainer l'hémolyse des globules rouges (érythrocytes). Cette propriété a amené la mise en place de tests hémolytique permettant la détection des saponines dans les extraits de plantes. Toutefois, la forte activité hémolytique de la plupart des saponines a freiné considérablement leur développement clinique en raison de leur toxicité potentielle lors de traitements donnés sous la forme d'injections intraveineuses (**Bouragan, 2013**).

2.2.4. Activité fongicide

L'extrait brut de *Sapindus mukorossi* présente une forte inhibition de la croissance contre la levure pathogène *Candida albicans*, qui provoque une candidose cutanée. La fraction saponines inhibe les champignons dermatophytes *Trichophyton rubrum*, *Sabouraudites canis* et *Epidermophyton floccosum* (Upadhyay et Singh, 2012).

2.2.5. Activité insecticide

L'extrait éthanoliques de *Sapindus mukorossi* a montré son pouvoir répulsif et son activité insecticide contre *Sitophilus oryzae* et *Pediculus humanus* (Suhagia et al., 2011).

Chapitre III

Les produits cosmétiques naturels

3. Produits cosmétiques naturels

L'histoire de l'humanité semble indissociable des produits cosmétiques. De tout temps, ceux-ci ont été les alliés des femmes et, souvent aussi, des hommes. Au fil des époques, les mœurs et les habitudes se sont bien sûr montrées très différentes, mais les produits cosmétiques ont toujours été présents. L'évolution de la cosmétologie est, depuis ces dernières années, considérable, notamment par le nombre de nouvelles substances qui apparaissent et par la pression de plus en plus forte de leur réglementation. Le produit cosmétique n'est plus ce produit qui devait tout à l'artificiel, au faux-semblant dans le but de donner l'illusion d'une réalité ou plutôt de cacher cette réalité. La cosmétologie est devenue une science, s'appuyant sur des faits précis d'ordre biologique et physicochimique et cette nouvelle conception s'est définitivement imposée.

Les préparations à base de plantes sont populaires et jouent un rôle important dans les soins de santé primaires et individuels à domicile. La popularité des produits dérivés de plantes utilisés dans les soins de santé a été attribuée à leur acceptation croissante et à leur utilisation dans l'industrie cosmétique (**Aburjai et Natsheh, 2003**). Ainsi que l'augmentation des coûts publics liés à l'entretien quotidien de la santé et du bien-être personnels. Environ 1 400 préparations à base de plantes sont largement utilisées, selon une enquête récente menée dans les États membres de l'Union européenne. Les produits cosmétiques doivent être sûrs dans des conditions d'utilisation normales ou raisonnablement prévisibles. En particulier, le raisonnement risque-bénéfice ne devrait pas justifier un risque pour la santé humaine (**Règlement E.U. 2009**). Les extraits de plantes sont principalement ajoutés aux préparations cosmétiques en raison de leurs constituants antioxydants (par exemple, les caroténoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols). En dehors de ceux-ci, des extraits de plantes ont également été utilisés pour leurs propriétés anti-inflammatoires topiques (**Kole et al., 2005**).

3.1. Définition d'un produit cosmétique

On entend par produit cosmétique toute substance ou mélange destiné à être mis en contact avec les diverses parties superficielles du corps humain, notamment l'épiderme, les systèmes pileux et capillaire, les ongles, les lèvres et les organes génitaux externes ou avec les dents et les muqueuses buccales en vue, exclusivement ou principalement, de les nettoyer, de les parfumer, d'en modifier l'aspect, de les protéger, de les maintenir en bon état ou de corriger les odeurs corporelles.

Il existe deux types des produits cosmétiques ; produits cosmétiques d'origine chimiques et produits cosmétiques d'origine biologique.

3.1.1. Les produits cosmétiques d'origine chimiques

Un cosmétique chimique est formulé à partir d'ingrédients de synthèse issus de l'industrie pétrochimique. Il y a quatre familles d'ingrédients : les principes actifs, les excipients, les adjuvants et les additifs. Certains de ces ingrédients sont accusés d'être nocifs pour la santé comme c'est le cas des parabènes (Goossens and Lepoittevin, 2003) (**Tableau 1**). Des études menées par l'ASSAPS en 2005, « Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé », Démontrent que l'utilisation des parabènes dans la formulation cosmétique pourrait dans certains cas agir comme perturbateur endocrinien, autrement dit contribuer à un dérèglement hormonal. De plus, la plupart des procédés de fabrication utilisés pour la transformation des matières ont des effets néfastes pour l'environnement (**Kondepudi, 2011**).

3.1.2. Les produits cosmétiques d'origine biologique

C'est un cosmétique qui maximise la contenance d'ingrédients naturels issus de plantes et cherche à minimiser l'utilisation d'ingrédients de synthèse tout en interdisant l'utilisation de certaines substances pétrochimiques (**Tableau I**). Un cosmétique bio est avant tout respectueux de l'environnement de l'Homme et dispose d'une traçabilité sur toute sa chaîne de production. Il existe plusieurs types de ces produits tels que les shampooings. (**Kondepudi, 2011**).

Des exemples de tels produits naturels orientés vers la beauté sont les régénérateurs des tissus cutanés, les agents anti-rides et les crèmes anti-âge. Les produits de soin de la peau tels que les crèmes pour la peau, les toniques pour la peau, etc. dérivés de plantes médicinales sont regroupés sous le nom de produits dermaceutiques (**Hoarea et DaSilva, 1999**).

3.1.3. Les shampooings

Les Shampooings sont probablement les produits cosmétiques les plus utilisés, produits pour nettoyer les cheveux et le cuir chevelu dans notre vie quotidienne (**Ishii, 1997**). Un shampooing est essentiellement une solution de détergent contenant des additifs appropriés pour d'autres avantages tels que l'amélioration des cheveux, la lubrification, les médicaments, etc...

De nombreuses plantes synthétiques, à base de plantes médicamenteuses et non shampooing médicamenteux sont disponibles sur le marché, mais la popularité du shampooing aux herbes chez les consommateurs est en hausse par ce que de leur conviction que ces produits étant d'origine naturelle sont sans danger et sans effets secondaires. Il y a un grand nombre de plantes médicinales qui auraient des effets bénéfiques sur les cheveux et sont couramment utilisées dans la formulation de shampooing (**Potluri et al., 2013**). Il est

extrêmement difficile de préparé un shampoing aux herbes en utilisant un seul matériau naturel qui serait plus doux que les synthétiques, et en même temps serait concurrencer favorablement ses propriétés moussantes détergentes et solides contenu(Shinde et al.,2013).

Tableau I : comparaison des ingrédients utilisés dans un produit cosmétique classique (chimique)/produit cosmétique bio.

Exemple d'émulsion	Produit cosmétique Classique (chimique)	Produit cosmétique bio
Phase aqueuse De 60 à 90 %	- Eau, eau distillée -	- Hydrolats chargés de principes - actifs provenant des plantes
Phase grasse De 5 à 30 %	- Esters de synthèse - Paraffine liquide - Substances minérales issues du pétrole - Silicones - Huiles végétales extraites à chaud et par un solvant	- Huiles végétales de première pression à froid - Cires naturelles (abeille, carnauba) - Triglycérides issus d'huiles végétales (coco, palme)
Agents de texture lipophiles	- Alcool gras et silicones	- Cires végétales (carnauba, candelilla) - Cire d'abeille
Actifs	- Molécule isolée par extraction ou synthèse - D'origine synthétique ou Naturelle	- Actifs naturels : extraits huileux, hydroalcooliques, plantes, hydrolats, huiles essentielles, vitamines...
Conservateurs	- Parabènes (méthyl-, éthyl-, propyl-, butyl-) - Phénoxyéthanol - Formaldéhyde - Chlorophénésine	- Conservateurs doux autorisés par les labels : acide sorbique, acide déhydroacétique, acide citrique, benzoate de sodium - Extrait de propolis ou de Pamplemousse
Parfum	- Synthétique	- Huiles essentielles - Hydrolats
Colorants	- Synthétiques	- Colorants naturels à base de minéraux, fruits, légumes, plantes

Chapitre IV

Matériel et méthodes

Objectifs du travail

Ce travail a pour buts :

- ✚ D'évaluer l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) des fruits de *Sapindus mukorossi* ;
- ✚ De formuler deux shampooings biologique (le 1er à base de *Sapindus mukorossi* et le 2eme avec un mélange entre *Sapindus mukorossi* et *Daphne gnidium*) ;
- ✚ D'évaluer et de comparer les propriétés physicochimiques des shampooings formulés avec un shampooing commercial.

Lieu et période d'expérimentation

La présente étude est réalisée, durant 3 mois (du 18 février jusqu'au le 27 Mai 2019), au sein des laboratoires de microbiologie, de biochimie, de technologie alimentaire, et de physiologie végétal, Faculté des Science de la nature et de la vie, Université Ibn Khaldoun de Tiaret.

4.1 Matériel

4.1.1. Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est composé des fruits du *Sapindus mukorossi* quiont été collectés dans le jardin de l'école nationale supérieure agronomique El Harrach, Alger. Cependant, les graines de *Daphne gnidium* ont été obtenus sur le marché de Tiaret, et ont été identifiés et authentifiés par un botaniste de l'Université Ibn Khaldoun Tiaret.

4.1.2. Matériel microbiologique

Le matériel microbien utilisé pour l'évaluation du pouvoir antimicrobien des fruits du *Sapindus mukorossi*, des souches microbiennes référenciées ATCC (American Type Culture Collection) ont été utilisées.

- *Staphylococcus aureus* 25923
- *Escherichia coli* 25922

Et deux levures (*Condida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*), toutes les souches utilisées proviennent du laboratoire de microbiologie de l'université Ibn Khaldoun Tiaret, à l'exception de la levure de *Condida albicans* d'origine clinique privée (laboratoire d'analyse médicale Dr. Bouziane).

4.1.3 Milieux de culture utilisée

Selon la méthode employée dans l'essai, ainsi que la souche choisie, nous avons utilisé les milieux de culture suivant :

- Les milieux (Chapman, Hektoen) utilisée pour l'entretien des souches bactériennes .
- La gélose de Mueller Hinton (MH) pour l'étude de la sensibilité bactérienne à des extraits de *Sapindus mukorossi*.
- La gélose de l'extraits de levure de malte pour taster l'activité antifongique.

4.1.4 Matériels de laboratoire (annexe A)

4.2 Méthodes

Les études ont été faites dans des conditions aseptiques, avec un matériel et dans une zone de travail stérile.

4.2.1. Préparation des extraits

L'extraction a été réalisée selon la méthode de **Aneja et al (2010)**. Brièvement, Les échantillons ont été soigneusement lavés à l'eau courante puis à l'eau distillée. Par la suite, ont été séché à une étuve (Memmert) à 28°C pendant cinq jours. Après le séchage, les fruits ont été broyés en poudre par un broyeur électrique (Fritsch) et stocké dans des bouteilles stériles et conservé loin d'humidité jusqu'à l'utilisation.

Trois solvants différents, à savoir l'éthanol, méthanol et l'acétone ont été utilisé pour l'extraction. Une quantité de 10g de poudre de fruits broyé a été trempée séparément dans 100 ml de chaque solvant : éthanol, méthanol et acétone à une concentration de 100% pour chacun et le mélange a subi une agitation pendant 24h (**Fig.8**).

Par la suite, chaque mélange a été filtrée à l'aide d'un papier filtre, puis l'extraits filtré a été concentré à l'aide d'une rota vapeur VE-11 (Heidolph) à une température inférieure à 40 °C. Puis, les extraits concentrée ont été séché dans une étuve à 35 °C pendant trois jours pour donner finalement des extraits sec qui ont été stockée dans des tubes dans un congélateur à 4 °C jusqu'à l'utilisation ultérieure.



Figure 08 : Différentes étapes pour la préparation des extraits de *Sapindus mukorossi*

4.2.2 Détermination du rendement en extraits

Le rendement de l'extrait brut, pour chaque solvant, est défini comme étant le rapport entre la masse de l'extrait sec obtenue et la masse du matériel végétale traité. Ce rendement est calculé via l'équation suivante :

$$R(\%) = me/mv \times 100$$

Sachant que ;

R(%) : Rendement en % ;

Me : Masse de l'extrait après l'évaporation du solvant ;

Mv : Masse de la matière végétale utilisée pour l'extraction (**Ronechtti et Russo, 1971**)

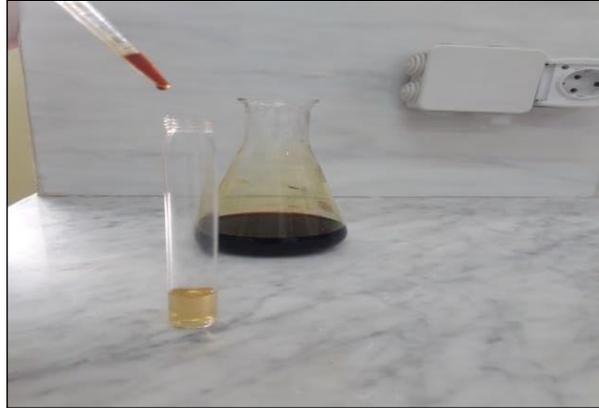
4.2.3 Screening phytochimique des extraits

Dans le but de caractériser les extraits préparés à partir des fruits de *Sapindus mukorossi*, des analyses qualitatives ont été effectuées. Cette étude permet de mettre en évidence la présence de quelques groupes chimiques, surtout les métabolites secondaires tels que : les tanins, alcaloïdes, les saponines...etc, dans nos extraits.

Ces groupes chimiques ont été caractérisés suivant les protocoles décrits dans les travaux de (**Georgeet Shanmugam ,2014**).

4.2.3.1. Détection des alcaloïdes (Test de wagner)

A quelques ml de filtrat, quelques gouttes des réactifs de Wagner (**Annexe c**) ont été

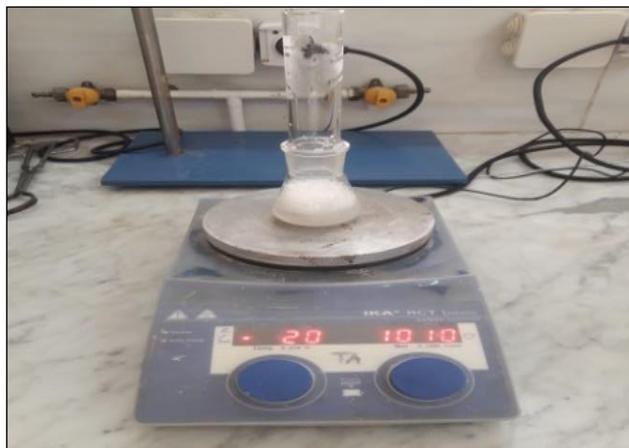


ajoutées. L'apparition d'un précipité brun rougeâtre confirme que le test est positif (**Fig.09**).

Figure 09 : test de détection des alcaloïdes

4.2.3.2. Détection des saponines

Pour la détection des saponines, 50 mg de l'extrait est dilué avec 20ml de l'eau



distillée (H₂O), la solution est agités dans un cylindre gradué pendant 15min. l'apparition d'une couche de mousse de 2 cm indique la présence des saponines (**Fig.10**).

Figure 10 : Test de détection des saponines.

4.2.3.3. Détection des acides aminés (Test de biuret)

2 ml de filtrat est traitée avec une goutte de solution de sulfate de cuivre à 2%, puis on ajoute 1ml d'éthanol (EtOH) à 95% et de l'excès de pastilles d'hydroxyde de potassium (NaOH). La couleur rose dans la couche éthanoïque indique la présence de protéines et des acides aminés (Fig11).

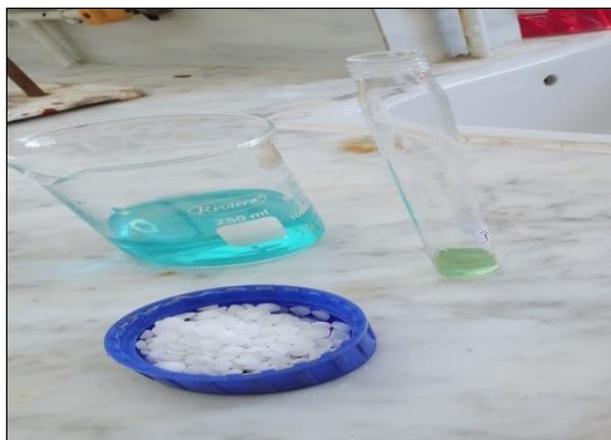


Figure 11 : Test de détection des acides aminés

4.2.3.4. Détection des stérols (Test de Liebermann Burchard)

50 mg de l'extrait a été dissous avec 2ml anhydrite acétique. Par la suite, une ou deux gouttes d'acide sulfurique concentré ont été ajoutés lentement sur les côtés de l'éprouvette. Un changement de couleur montre la présence des phytostérols.

4.2.3.5. Détection des composés phénoliques

✚ Par le test de chlorure ferrique

50 mg de l'extrait a été dissous dans 5 ml de l'eau distillé. Puis, quelques gouttes de solution de chlorure ferrique à 5% (Fe Cl) ont été ajoutées. L'apparition d'une couleur vert indique la présence des composés phénoliques.

✚ Par le test de l'acétate de plomb

50 mg de l'extrait a été dissous dans l'eau distillé, après on ajoute 3ml de solution d'acétate de plomb à 10%. L'apparition d'une précipitation blanche volumineuse indique la présence des composés phénoliques.

4.2.3.6. Détection des flavonoïdes

Quelque mg de l'extrait est dissous dans l'eau distillé et traitée, par la suite, avec une solution d'hydroxyde d'ammonium à 10%. L'apparition d'une couleur jaune indique la présence des flavonoïdes.

4.2.3.7. Détection des phlobatanins

0.5g d'extrait a été dissous dans l'eau distillée et filtré, le filtre a été bouilli avec une solution d'acide chlorhydrique à 2%. La précipitation rouge montre la présence de phlobatanins.

4.2.4. Evaluation du pouvoir antimicrobien des extraits

Le terme "agent antimicrobien" désigne toute substance utilisée pour détruire les micro-organismes ou empêcher leur croissance, y compris, agents antibactériens, agent antifongique... Ces agents sont utilisés depuis des décennies pour traiter les maladies transmissibles et prévenir les infections. Le mode d'action de ces agents sur les bactéries, les levures ou les champignons peuvent être : soit, par inhibition de la multiplication de ces microorganismes, soit par destruction totale des microorganismes.

4.2.4.1. Prés identification des souches microbiennes utilisées

Les souches microbiennes utilisées : *E. coli*, *S. aureus* sont des souches déjà identifiées et référencées. On a vérifié leurs puretés d'abord par revivifications des souches en milieu de cultures sélectives (chapman pour *S.aureus* et hektoen pour *E.coli*) et repiquages successif suivie par quelques tests incluant. Pour *C. albicans*, on l'a pris de milieu de culture sélectif (Sabourand + chloramphénicol) et *S. cerevisiae* a été préparé à partir de levure de Boulanger.

Examen macroscopique

Il permet d'observer la taille, la forme, la couleur et l'aspect des colonies des souches.

Examen microscopique

- **Etat frais**

Cette technique permet d'observer la forme des bactéries et des levures à l'état vivant pour examiner leurs morphologies et leurs mobilités.

- **Coloration de Gram**

Cet examen a pour but d'observer la forme des bactéries (coque, bacille, coccobacille), ainsi que le type de coloration de Gram positif ou négatif.

Examen biochimique

- **Test catalase**

Les souches bactériennes ont été examinées pour leur activité catalase qui a été révélée en déposant sur une lame en verre propre, une colonie bactérienne en présence de H₂O₂ à 3%. Une réaction catalase positive se traduit par l'apparition de bulles d'aires en 10 secondes.

4.2.4.2. Aromatogrammes

4.2.4.2.1. Préparation de l'inoculum des microorganismes

Pour chaque souche étudiée, l'inoculum a été préparé comme suit :

- À partir d'une culture pure de 24 h sur un milieu d'isolement racler à l'aide d'un écouvillon quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologie stérile à 0,9% de sel (NaCl) sauf, pour *Saccharomyces cerevisiae* qu'elle est transférer dans l'eau distillée stérile.
- Ajuster la densité de l'inoculum à 0.5 Mc Farland (10^6 à 10^8 UFC/ml) à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde 625 nm pour les bactéries et 449 nm pour les levures en ajoutant soit un fragment de colonie (pour augmenter la densité) soit de l'eau physiologique stérile (pour diluer).
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 min qui suivent la préparation de l'inoculum (**recommandation d'OMS, 2005**).

4-.2.4.2.2. Méthode des diffusions des disques

La méthode repose sur la diffusion du composé antimicrobienne en milieu solide dans un boîte de pétri, avec création d'un gradient de concentration après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible.

Ils ont classé le pouvoir antimicrobienne, en fonction des diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en quatre classes:

L'effet du produit antimicrobien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, et en fonction du diamètre d'inhibition (**Hellal, 2011**)

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre <8 mm ;
- Sensible (+) : diamètre entre 9à14 mm ;
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à19mm ;
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre >20mm (**Ponce et al.,2003**).

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger le maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosées, séché, de haut en bas en stries serrées.

- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, et il faut recharger l'écouvillon dans chaque boîte.

-à l'aide d'une pince stérile, nous prélevons un disque stérile (Les disques sont préparés à partir du papier filtre de 6 mm de diamètre, puis elles sont transférées dans une bouteille, ensuite à l'aide d'un autoclave stérilisés les disques pondent 15 minutes à 120°C, puis

stockés à une température ambiante dans des bouteilles hermétiquement fermées. nous l'imbibons un volume de 10µl des différents extraits de péricarpe du *Sapindus mukorossi* avec une gamme de concentration 1000mg/ml, 500mg/ml 250mg/ml 100mg/ml, 50mg/ml 25mg/ml, 12,5mg/ml 6,25mg/ml 3,12mg/ml 1,56mg/ml (**Rasoanaivo et Ratsimamangurveg, 1993**). Nous déposons le disque sur la surface de la gélose (3 disques pour chaque boîte), puis nous laissons diffuser sur la paillasse pendant 30 minutes.

Nous incubons à 37c° pendant 18 heures pour les bactéries et pour les levures 28c° pendant 24 à 48 heures. Le témoin est réalisé dans la même condition sans extraits.

4.2.4.2.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est un critère d'importance majeure, elle est jugée comme la plus faible concentration au quelle on observe une réduction importante de la croissance microbienne (aucun trouble visuel n'est observé).

Le principe de la méthode consiste à diluer la substance antimicrobienne à tester et à inoculer le milieu avec les microorganismes.

L'extrait montrant la meilleure activité antimicrobienne, a subi des dilutions successives de solution mère (SM =1000 mg/ml) (1/2, 1/4 1/10 1/20 1/40....) afin de déterminer la moindre concentration donnant une zone d'inhibition. Cette concentration est considérée comme la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**Salama et Marraiki,2010**)

4.2.5. Formulation et évaluation de deux shampoings naturels à base de *Sapindus mukorossi*

Le shampoing, un produit cosmétique, est la forme la plus courante de traitement capillaire. Les shampoings sont principalement des produits destinés au nettoyage et amélioration des cheveux et du cuir chevelu. Actuellement, il semble improbable que le shampoing aux herbes, bien que de meilleure performance et plus sûr que les synthétiques, soit populaire auprès des consommateurs. Une approche de la vulgarisation du shampoing aux herbes serait de changer les attentes des consommateurs vis-à-vis d'un shampoing, en mettant l'accent sur la sécurité et l'efficacité.

Cependant, Il est extrêmement difficile de préparer un shampoing aux herbes avec un seul matériau naturel (une seule plante), plus doux et plus sûr que les synthétiques, tout en concurrençant favorablement ses propriétés moussante, détergente et solide.

Le phénomène de synergie qui est un fait reconnu par tous les spécialistes des plantes a peut être prouvé scientifiquement ; donc pour donner plus d'efficacité aux fruits de *Sapindus mukorossi*, on a ajouté l'extrait d'une autre plante appelée *Daphne gnidium* qui est connue par

leurs vertu phytothérapeutique et son utilisation populaire (en Algérie) dans les traitements des cheveux.

Cette partie de notre travail a été conçue pour formuler un shampoing aux herbes (*Sapindus mukorossi* seule/ou combinée avec *Daphne gnidium*), évaluer et comparer ses propriétés physicochimiques avec un shampoing synthétique commercialisé, à la recherche d'un produit cosmétique sûr et efficace.

4.2.5.1. Préparation des extraits des plants

100 g de péricarpe de fruit de *Sapindus mukorossi* et de *Daphne gnidium* ont été lavées à l'eau courante pour éliminer les substances étrangères, homogénéisées et bouillies à l'eau chaude pendant 4 h.

Les péricarpes *Sapindus mukorossi* ont été extraits par la méthode de macération à froid en utilisant de l'alcool éthylique à 70% comme solvant

Les extraits de *Daphne gnidium* ont également été préparés par la même méthode que *Sapindus* et en utilisant le même solvant (l'éthanol)

4.2.5.2. Formulation des shampoings

Dans le premier shampoing on n'a utilisé que l'extrait de *Sapindus* (9 g) (**Tableau 3**). Alors que, pour le 2eme shampoing, les extraits de plantes ont été mélangés avec des proportions égales (**Tableau II**). Par la suite, pour chaque shampoing, les extraits à base de plantes ont été ajoutés à une solution de gélatine à 10% et ont été mélangés par agitation pendant 20 min. Puis, 1 ml du jus de citron (en tant que antioxydant) et 1 ml d'acide salicylique (en tant que conservateur) ont été ajoutés sous agitation. Enfin, le pH de la solution a été ajusté en ajoutant une quantité suffisante de solution d'acide citrique à 1%.

Quelques gouttes d'huile essentielle de la lavande ont également été ajoutées pour donner l'arôme partiel des shampoings préparés et le volume final a été complété à 100 ml avec une solution de gélatine.

Tableau II : Composition du deux shampoings aux herbes formulé.

Matériel	Quantité pour shampooing 1	Quantité pour shampooing 2
Extrait de <i>Sapindus</i>	9 g	4,5 g
Extrait de <i>Daphen gnidium</i>	/	4,5 g
Jus de citron	1 ml	1 ml
Acide salicylique	1 ml de solution à 0,05%	1 ml de solution à 0,05%
Solution de gélatine	Selon les besoins	Selon les besoins
Acide citrique	Selon les besoins	Selon les besoins
Huile essentielle	0 ,1 ml	0 ,1 ml

4.2.5.3. Évaluation des shampoing formulés et commercial

Pour évaluer la qualité des formulations préparées et commerciales, plusieurs tests de contrôle de la qualité, notamment des évaluations visuelles et des tests de performances de conditionnement physico-chimiques, ont été réalisés (**Rakesh et al., 2010**).

4.2.5.3.1. Aspect physique/ inspection visuelle

Les formulations préparées ont été évaluée pour sa clarté, sa couleur, son odeur et sa capacité à produire de la mousse (**Aghel et al, 2007**).

4.2.5.3.2. Capacité moussante

La capacité moussante des shampoings formulés a été déterminée en utilisant la méthode de cylindre. Brièvement, 50 ml de la solution des shampoings formulées ou commerciale à 1% ont été placé dans un cylindre gradué de 250 ml, puis le cylindre est recouvert avec la main et agité 10 fois. Le volume total de la teneur en mousse après 1 min enregistré. La stabilité de la mousse a été évaluée en enregistrant le volume de la mousse après 1 min et 4 min de test d'agitation (**Klein, 2004**).

4.2.5.3. 3. Test de temps de mouillage

Un papier canevas a été découpé en disques de 1 pouce (2,5 cm) de diamètre, pesant en moyenne 0,44g. La surface lisse du disque a été placée sur la surface d'une solution de shampooing à 1% V/V et le chronomètre a été démarré. Le temps requis pour que le disque devienne complètement humide a été noté comme le temps de mouillage (**Manikar et Jolly,2000**) (**Fig.12**).



Figure12 : Test de mouillage

4. 2. 5. 3. 4.Détermination du pH

4.2.5.3.4. Détermination du pH

Le pH d'une solution de shampooing à 10% V/V dans l'eau distillée a été mesuré en utilisant un pH-mètre (Hanna) à une température ambiante (**Tarun et al. 2014**).

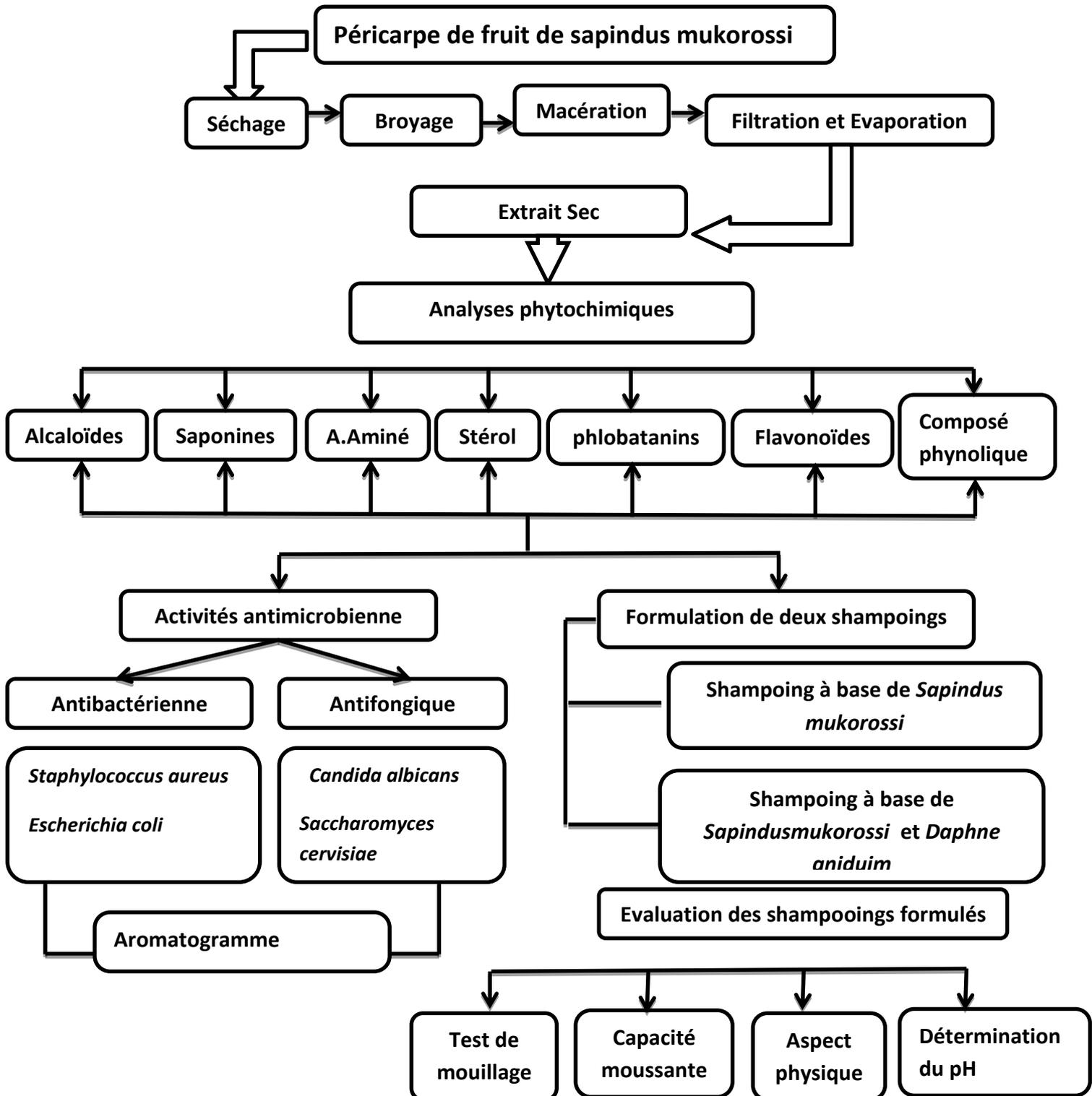
4.2.5.3.5. Test de dispersion de saleté

Deux gouttes de shampooing ont été mises avec 10 ml d'eau distillée dans un tube à essai (pour chaque type de shampooing). Dans chaque tube, des gouttes d'encre de chine ont été ajoutés, puis les tubes ont été bouchés et agités dix fois.

La quantité d'encre dans la mousse était indiquée par la rubrique telle que (i) aucune, (ii) légère, (iii) modérée ou (iv) forte (**Ali et Kadhim, 2011**).

4.3. Protocole expérimental

Le protocole expérimental adopté dans cette étude (pour les eux parties : activité antimicrobienne et formulation des shampooings) est celui décrit dans la figure n°13 :



Chapitre V

Résultats et discussion

|

5.1. Taux d'extraction

L'extraction est une étape importante dans l'étude et l'isolement des composés bioactifs des plantes. Au cours de l'extraction les solvants diffusent dans le matériel végétal solide et solubilisent les composés qui ont une polarité similaire (Tiwari *et al.*, 2011).

Les fruits de la plante de *Sapindus mukorossi* ont été soumis à une extraction en utilisant le méthanol, l'éthanol et l'acétone comme solvants d'extraction. Après évaporation de méthanol et d'acétone, un résidu sec d'extrait brut a été obtenu ayant un poids 3.7g ce qui correspond à un rendement de 37,4%, pour les deux solvants. Cependant, l'évaporation de l'éthanol a donné un résidu sec de 2,7 g, soit un rendement de 27,8% (Tableau III).

En outre, ces extraits obtenus à partir de différents solvants ont montré de caractéristiques morphologiques différentes varie en fonction de solvant. Les résultats de la couleur et de l'aspect, sont indiqués dans le tableau III. L'extrait acétonique (EAcOEt) a présenté un aspect de poudre avec une couleur vert claire ; cependant les deux autres extraits ont un aspect pâteux avec une couleur rouge pour l'extrait méthanolique (EMeOH) et marron pour l'extrait éthanolique (EEtOH).

Tableau III : Caractéristiques organoleptiques des extraits : éthanolique, méthanolique, acétonique.

Caractéristiques Extraits	Aspect	Couleur	Masse (g)	Rendement (%)
AcOEt	Poudre	Vert claire	3.744	37.4
MeOH	Pate	Rouge	3.744	37.4
EtOH	Pate	Marron	2.78	27.8

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par MAHMOUDI *et al.*, (2013) qui ont trouvé que l'acétone comme meilleur solvant d'extraction avec un rendement de 19.29% suivi par le méthanol avec la valeur (14%).

La différence dans les polarités des solvants d'extraction influence la solubilité des constituants chimiques d'un échantillon ainsi que le rendement d'extraction (Sulaiman *et al.*, 2011). Cette variabilité en terme de teneur est probablement due au fait que la solubilité des composés phénoliques est influencée par le type de solvant utilisé (Tsao, 2004).

De même, le rendement d'extrait est influencé par plusieurs facteurs comme la température,

le temps de la macération, le ratio masse matière végétale/ volume du solvant extracteur, car ils sont capable de modifier le transfert de la matière dans l'extraction solide-liquide (Yrjonen, 2004). Ceci explique les teneurs obtenues avec les quatre solvants utilisé.

5.2. Screening phytochimique des exrtraits

Les tests phytochimiques ont été réalisés sur les extraits des fruits de *Sapindus mukorossi* en utilisant des réactifs spécifiques de révélation basés sur des réactions de précipitation et de turbidité ou un changement de couleur spécifique.

Le **tableau IV** et la figures **14** représentent les résultats des propriétés phytochimique des extraits de *Sapindus mukorossi*.

Tableau IV : Analyses phytochimique des extraits de *Sapindus mukorossi*

Extrats Test phytochimiques	Acétone	Méthanol	Ethanol
Test des alcaloïdes	++	++	++
Test des flavonoïdes	+	+	+
Test des acides aminés	-	-	-
Test des saponines	+++	+++	+++
Test des composés phénoliques	++	++	++
Test des stérols	++	++	++
Test des phlobatannins	+	+	+

Sachant que :

-  - : Négatif
-  + : positif
-  +++ : Fortement positif

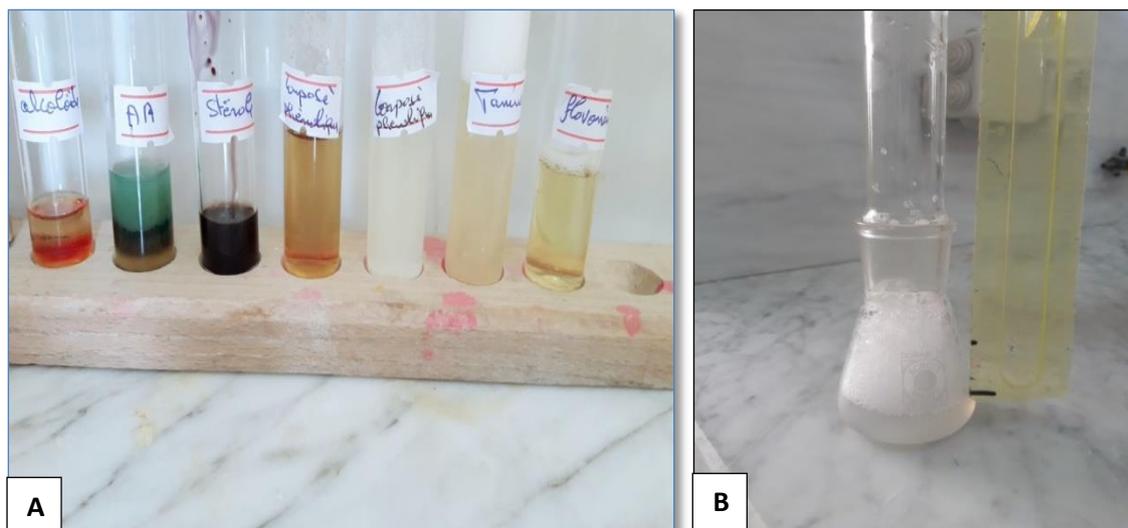


Figure 14 : (A) Différents tests phytochimique, (B) : résultats de test de saponines

D'après les résultats obtenus dans le tableau IV et les figures 14,15 si dessus, nous avons noté que le fruit de *Sapindus mukorossi*, est très riche par des composants tels que les saponines, alcaloïdes, flavonoïdes, les phlobatanins, les composé phénolique, les phytostérols alors que le teste des acide aminé à revête en résultat négative.

Sapindus mukorossi, est parmi les plantes les plus utilisés dans les domaines pharmaceutiques, et médicinaux surtout dans les domaines cosmétiques.

Un criblage phytochimique qualitatif par conformation chromatographique a été élaboré pour le péricarpe de fruit de *Sapindus mukorossi* en vue d'une caractérisation des substances chimique susceptible d'être explorés à plusieurs échelles.

Cette étude phytochimique réalisée sur *Sapindus mukorossi* présenté des résultats identiques à ceux obtenus dans autre travaux, (George et Shanmugem ,2014) et (Marvedenez ,2016) ont trouvé que le fruit de *Sapindus mukorossi* , provenant dans la région d'Inde contient des flavonoïdes , des tanins , des alcaloïdes, des phytostérols ,des acide aminé des saponines et de composé phénolique, de même l'étude mené par (Ibrahim et al.,2006) aussi provenant dans l'inde a permis de révéler la présence des phytostérols, les saponines, les flavonoïdes et aussi les acides aminé et l'absence total des alcaloïdes ,des glucosides , des tannins.

Cette différenciation est expliqué par une différence au niveau de plusieurs paramètres soient géographiques, physicochimique ou géologique tels que ; la différence de site de récolte y compris l'environnement la topographie, la lumière, la saison, la procédure d'extraction utilisé ect.

Les métabolites primaires sont communs pour toutes les espèces et peuvent être subdivisés aux protéines, lipides, glucides et acides nucléiques (Shinde,2013) Les métabolites secondaires sont des molécules ayant une répartition limitée dans l'organisme de la plante.

5.3. Activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne des trois extraits a été évaluée sur quatre souches microbiennes (deux bactéries et deux levures) cette activité a été réalisée par la méthode des disques d'agar, le pouvoir antimicrobienne a été obtenu par la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Les résultats obtenus de l'activité antibactérienne et antifongique des extraits de *Sapindus mukorossi* ont été présentés dans le **tableau V**.

Tableau V : Activité antimicrobienne des extraits de *Sapindus mukorossi*

Souches \ Extraits	<i>S .aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>C .albicans</i>	<i>S. cerviceae</i>
Méthanol	-	-	-	+
Ethanol	-	-	-	+
Acétone	+	-	-	+
Témoin	-	-	-	-

- = Négatif

+ =Positif

Le tableau montre une activité antibactérienne sur la bactérie de *S.aureus* dans l'extrait acétonique et antifongique sur la levure de *S.cerviceae* avec les trois extraits de *Sapindus mukorossi*, et aucun effet a été observé sur la bactérie *E.coli* et la levure *C.albicans*.

5.3.1. Effets antibactériens des extraits de *sapindus mukorossi*

Les valeurs des zones d'inhibition des extraits de *Sapindus mukorossi* à l'égard d'*E.coli* et *S.aureus* sont montrées dans le **tableau VI**

TableauVI: Diamètres des zones d'inhibition (mm) des extraits et témoins négatifs à différentes concentrations sur *E.coli* et *S.aureus*

Extraits (100%)	Dilution	<i>E.coli</i>	<i>S .aureus</i>
Acétone	1000	-	13
	500	-	10
	250	-	-
	100	-	-
	50	-	-
	25	-	-
	12,25	-	-
	6,12	-	-
	3,06	-	-
	1,53	-	-
Méthanol	1000	-	-
	500	-	-
	250	-	-
	100	-	-
	50	-	-
	25	-	-
	12,25	-	-
	6,12	-	-
	3,06	-	-
	1,53	-	-
Ethanol	1000	-	-
	500	-	-
	250	-	-
	100	-	-
	50	-	-
	25	-	-
	12,25	-	-
	6,12	-	-
	3,06	-	-
	1,53	-	-
Témoins	-	-	-

- : inhibition de la croissance

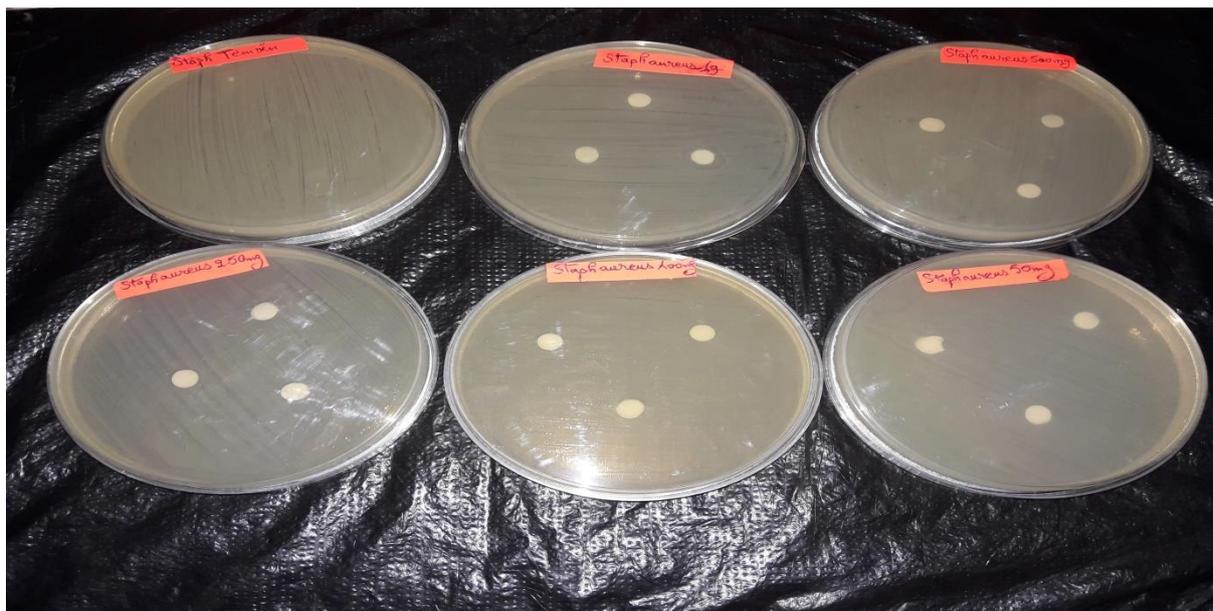


Figure16: Activité antibactérienne de *Sapindus mukorossi*(Originale 2019)

D'après ces résultats, on constate que l'extrait acétonique à 100% montre une activité antibactérienne contre *S.aureus* avec une zone d'inhibition de (13 ± 6) , par contre aucune activité n'a été observée avec les autres extraits (méthanol, éthanol).

Ce qui confirme par les travaux de **Marvedenez ,(2016)** on trouve avec l'extrait acétonique à 100% la zone d'inhibition pour *S.aureus* était observée supérieure à 12,5mg /ml.

Par contre l'étude fait par **Aneja et al.(2010)** indique l'absence de l'activité inhibitrice de *Sapindus mukorossi* n'a été démontrée sur *S.aureus*.

Les résultats montrent qu'aucun extrait n'a exercé un effet antibactérien vis-à-vis la souche bactérien *E.coli* ; ce qui pourrait être expliqué par la structure de la paroi externe des Gram négatifs qui s'oppose à la pénétration des molécules bioactives (**Tiari et al.,2009**).

Mervedeniz et al .(2016) montre que la croissance d'inhibition pour *E.coli* a été observée 12,5 mg/ml.

5.3.1.1. Détermination des CMI des extraits de *sapindus mukorossi*

Les résultats de la détermination des CMI sont illustrés dans le tableau VII

Tableau VII : Concentration minimales inhibitrices des extraits de *S. mukorossi* sur la souche bactérienne *S.aureus*.

Extrait <i>Sapindus mukorossi</i>	CMI (mg/ml)		
	Acétone	méthanol	éthanol
<i>S.aureus</i>	500	-	-

Les résultats présentés dans le tableau VII montrent une activité dans l'extrait acétonique à 100% sur *S. aureus* ; avec une CMI de 500mg/ml. Par contre aucun effet a été observé sur les autres extraits éthanolique et méthanolique.

Les études **Oumaskour et al. (2012)** ont montré que les bactéries à Gram positif présentent une sensibilité supérieure à celle des bactéries à Gram négatif.

Masiba et al.(2009) expliquent ce phénomène , en considérant que la résistance d'*E.coli* Gram négatif aux agents antimicrobiens est liée à la présence d'une enveloppe qui comprend une membrane cellulaire riche en LPS (lipopolysaccharides) ce qui limite l'accès des agents antimicrobiens à leur cibles dans les cellules bactériennes sont en contact avec l'enveloppe bactérienne, contrairement aux bactéries Gram positif qui sont moins protégées contre les agents externes (détergent et antibiotique). Dans l'ensemble, la souche bactérienne testée à Gram positif était plus sensible que les Gram négatif.

5.3.2. Effet antifongique des extraits de *S. mukorossi* sur *C.albicans* et *S.cervisiae*

Les valeurs des zones d'inhibition des extraits de *S.mukorossi* sont montrés dans le tableau **VIII**.

Tableau VIII : Les zones d'inhibition des extraits et témoins négative à différentes concentration sur *C.albicans* et *S.cerviciae*

Extraits	Dilution	<i>S.cerviciae</i>	<i>C.albicans</i>
Acétone	1000	30 mm	-
	500	18 mm	-
	250	14 mm	-
	100	13 mm	-
	50	12 mm	-
	25	9,4mm	-
	12 ,25	-	-
	6,12	-	-
	3,06	-	-
	1,53	-	-
	Méthanol	1000	16mm
500		14mm	-
250		13mm	-
100		11mm	-
50		9mm	-
25		-	-
12,25		-	-
6,12		-	-
3,06		-	-
1,53		-	-
Ethanol		1000	18mm
	500	17mm	-
	250	12mm	-
	100	11mm	-
	50	8,5mm	-
	25	-	-
	12,25	-	-
	6,12	-	-
	3,06	-	-
	1,53	-	-
	Témoins	-	-

- : inhibition de la croissance

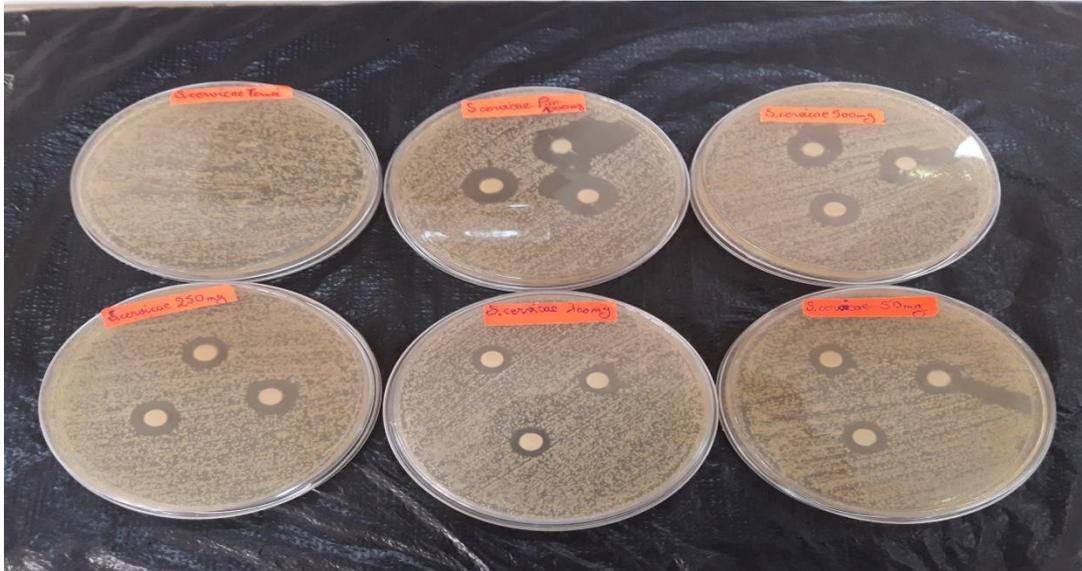


Figure 17: Activité antifongique de l'extrait de *Sapindus mukorossi* (Originale 2019)

D'après les données il est évident que les trios extraits de *S.mukorossi* c'est-à-dire acétonique, méthanolique et éthanolique ont montrés une activité inhibitrice antifongique contre *S.cervicaie*, dont le diamètre moyen de la zone d'inhibition le plus élevée est de 30 mm a survécu jusqu'à 25 mg/ml dans l'extrait acétonique.

De même l'étude mène par **Aneja et al.(2010)** montre une activité inhibitrice antifongique contre la levure de *S.cervicaie* à une zone d'inhibition et de 29,65 mm dans l'extrait acétonique.

Les résultats du tableau VIII montrent qu'aucune effet d'inhibitrice n'a été observée avec tous les extraits de *S.mukorossi* vis-à-vis *C.albicans*.

Ce que confirmé par les travaux **Aneja et al.(2016)**, **Siger et al.(2016)** et **Denz kose,(2016)**.

Par contre l'étude fait par **Upadhyay et Singh .(2016)**, a montré que l'extrait de *S.mukorossi* présente une forte activité inhibitrice, contre la levure pathogène (*C.albicans*).

Les levures du genre *candida* sont les plus fréquente en pathologie humaine *C.albicans* qui est les plus fréquent puisque saprophyte de tube digestif de l'Homme (**Koenig ,1995**) cette levure peut se comporter en pathogène et présenter un caractère invasif c'est le principal agent des candidoses cutané-muqueuses, mais aussi des candidoses systémiques et des candidoses disséminées.

Des espèces de *candida* sont considérées comme résistantes ou flucorazole peuvent se révéler résistantes à cet agent par induction de mécanisme d'efflux ou par mutation du gène.

5.3.2.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice des extrais de *S.mukorossi*

Les résultats de la détermination de la CMI des extraits de *S.mukorossi* sont présentés dans le tableau **IX**

Tableau IX: Concentration minimales des extraits de *S.mukorossi*

Extraits	CMI (mg/ml)
Acétone	25
Méthanol	50
Ethanol	50

L'extrait acétonique à exercer un effet sur *S.cerviciae* avec une CMI de 25mg/ml, par contre l'extraits méthanolique et éthanolique ont montré avec une CMI de 50 mg/ml.

5.4. Formulation des Shampoings aux herbes

Deux shampoings aux herbes pures ont été formulés (**Fig.18**), le premier en utilisant les extraits de Sapindus seuls, et le deuxième en mélangeant une solution aqueuse extraite alcoolisés de Sapindus et de *Daphen gnidium*.

Ces matières végétales contiennent des composés phytochimiques tels que les saponines, des tensioactifs naturels possédant de bonnes propriétés détergentes et moussantes.L'extrait de *Daphen gnidium* a été ajouté en tant qu'agent de conditionnement et enrichissement.

Un bon shampoing doit avoir une viscosité suffisante pour faciliter le retrait de la bouteille, mais ne doit pas s'égoutter des cheveux pendant l'utilisation. Une variété de matériaux naturels est disponible pour être utilisée comme adjuvant de viscosité. Nous avons utilisé une solution de gélatine à 10% à cette fin, car elle montre un comportement pséduoplastique et forme des solutions claires. L'acide citrique a été ajouté pour ajuster le pH au niveau souhaité. Du jus de citron (1 ml) a également été ajouté en tant qu'antioxydant naturel, agent chélatant et agent antipelliculaire pour maintenir le pH acide de la formulation. Le shampoing a également été préservé par l'ajout d'une petite quantité (1 ml) d'acide salicylique pour remplacer le conservateur le plus utilisé « le méthylparaben », qui a des effets nocifs sur la santé. La formule finale du shampoing préparé est présentée dans **le tableau 3 (M&M)**.



Fig18 : Les deux shampoings formulés, (A) : à base de *S.mukorossi* et *D.gndium* (B) : à base de *S.mukorossi*

5.4.1. Evaluation des Shampoings

L'efficacité des formules à base de plantes et du shampoing commercial a été évaluée en effectuant des tests physico-chimiques simples dont les résultats sont présentés ci-dessous.

5.4.1.1. Aspect physique/ inspection visuelle

Un shampoing comme toute autre préparation cosmétique devrait avoir une bonne apparence physique attirante. Les shampoings formulés et commercialisé ont été évalués pour leurs caractéristiques physiques telles que la couleur, l'odeur et la transparence (**tableau 11**). Notre premier shampoing préparé a été blanchâtre, et avait une bonne odeur. Cependant, le deuxième a été de couleur vert foncé avec une bonne odeur. Aucune différence significative n'a été observée en termes d'odeur, de transparence et de caractéristiques moussantes entre le shampoing commercial et les shampoings formulés, à l'exception de la couleur.

5.4.1.2. Le pH

La plupart des shampoings sont formulés comme neutre ou légèrement alcalin pour minimiser les dommages aux cheveux. Le pH du shampoing contribue également à minimiser l'irritation des yeux, améliore la qualité de cheveux et de maintenir l'équilibre écologique du cuir chevelu (**Baran et Maibah, 1998**). Le pH du shampoing commercial testé était compris dans la range préférée (entre 7 et 5) (**tableau 11**). Des valeurs équilibrées en acide ont été observées avec le shampoing commercial. Cependant, le pH des shampoings formulés est de 3,68 pour le premier shampoing (de *Sapindus mukorossi*) et de 3,61 pour le deuxième shampoing (de *Sapindus mukorossi* + *Daphen gnidium*) (**tableau 11**). Donc ils ont montré des shampoings acides qui peuvent être ajusté par des solutions alcalines naturelles.

5.4.1.3. Capacité moussante et stabilité de la mousse

La mousse est très importante pour le consommateur et l'utilisateur, et par conséquent, il est considéré comme un paramètre important dans l'évaluation du shampoing.

Tous les shampoings testés produisent le même volume de mousse pendant 5 min, ce qui montre que leurs mousses ont des bonnes stabilités. Pour le shampoing commercial, la mousse a été de 5 cm après 1 min, puis elle a diminuée à 4,5 cm après 4 min. cependant, pour le premier shampoing formulé, la mousse a été 6.8 cm, au début et après 4 min elle a diminué à 4, 5 cm et pour le deuxième shampoing elle a été 4 cm au début et après 4 min elle a diminué 3.4 cm) (**Fig.19**).



Figure 19 : Volume de mousse des shampoings

5.4.1. 4. Temps de mouillage

La capacité de mouillage d'un surfactant dépend de sa concentration est couramment utilisée pour tester son efficacité. La méthode de disque de toile est un test rapide, efficace et fiable pour évaluer la capacité de mouillage d'un shampoing (**Manikar et Jolly, 2000**). Le temps de mouillage des trois shampoings a été trouvé dans l'ordre 187<243<322 secondes pour le shampoing commercialisé, le premier shampoing et pour le deuxième shampoing, respectivement. On peut en conclure que le mouillage par contraste notre shampoing formulé a présenté un temps de mouillage maximal à base (*Sapindus mukorossi*), ils contiennent donc concentration minimale de détergents.

TableauXI: Caractéristiques physique des shampooings formulés

	<i>S.mukorossi</i>	<i>Daphen gnidium</i>	Commercial
Couleur	Blanc châtre	Vert foncé	Vert clair
Odeur	Très bien	Très bien	Très bien
Ph	3.68	3.61	6.71
Temps de mouillage	243	322	187

Ali et Rasool, (2011) ont décrit une formulation de shampooing auto-conservant ayant une faible concentration de détergent à l'aide de *Ziziphus spina*, en mettant l'accent sur la sécurité et l'efficacité. L'évaluation des tests organoleptiques, physicochimiques et de performance a été réalisée et comparée à celle d'un produit à base de plantes commercialisé et considérée comme sûre. De même, (**Sachin Dubey et al.,2004**) ont formulé deux préparations de shampooing aux herbes à l'aide de médicaments traditionnels tels que henné et brahmi (plantes indienne) et a été évalué pour ses propriétés organoleptiques et poudres, son test de mousse et son évaluation physique, et considéré comme sûr et efficace. Os résultats sur l'évaluation des shampooings formulés rejoint ceux réalisés par(**Al Badi et Khan,2014**), qui ont formulé un shampooing aux herbes a été formulé en ajoutant des extraits d'*Acacia concinna*, de *Sapindus mukorossi*, de *Phyllanthus emblica*, de *Ziziphus spina christi* et de *Citrus aurantifolia*. De même, (**Nasrin Aghel et al.,2007**) a formulé un shampooing aux herbes à base de saponines totales d'*acanthophyllum squarrosum*. La capacité de moussage du shampooing et le pouvoir nettoyant ont présenté des résultats intéressants.

Conclusion

Les plantes médicinales restent toujours la source fiable des principes actifs connus par leurs propriétés thérapeutiques. Dans ce présent travail qui se divise en deux grandes parties.

Dans la première partie, une étude des propriétés antimicrobienne des fruits de *Sapindus mukorossia* été réalisée. Tout d'abord, l'extraction a été faite avec trois solvants, à savoir : le méthanol, l'éthanol et l'acétone. Le meilleur rendement d'extraction en résidu sec a été obtenu avec l'acétone et le méthanol, avec un rendement de 37.4% par contre la plus faible était avec éthanol (27.8%). Par la suite, la caractérisation phytochimique des fruits de *Sapindus mukorossia* révélé la présence d'une large gamme demétabolites secondaires, tel que : les saponines, les alcaloïdes, les stérols, les tannins, les composés phénoliques et les flavonoïdes.

En outre, l'activité antimicrobienne a été déterminée sur quatre souches (deux bactéries et deux levures) en suivant la méthode de diffusion des disques. Les résultats indiquent que les trois extraits possèdent une activité antimicrobienne sur *Saccaromyces cerviceae* avec un CMI de 25 mg/ml dans l'extrait acétonique. Pour la bactérie à Gram + *Staphylococcus aureus* un CMI de 500 mg/ml. Par contre, les trois extraits, n'ont montré aucune activité inhibitrice sur la levure *C.albicans* et la bactérie *E.coli*.

Dans la deuxième partie, Nous avons formulés deux shampooings aux herbes naturels, le premier à base de *Sapindus mukorossi* seule et l'autre shampooing à base de *Sapindus mukorossi* et *Daphen gnidium*. Tous les ingrédients utilisés dans la formulation des shampooings sont plus sûrs et biologiques que les silicones et les agents revitalisants synthétiques et peuvent réduire considérablement la perte de cheveux ou de protéines lors du peignage. Plusieurs tests ont été effectués pour évaluer et comparer les propriétés physicochimiques des shampooings préparés et commercialisés. Notre shampooing préparé a donné des résultats presque comparables à ceux du shampooing vendu sur le marché pour les tests de contrôle de la qualité, mais des travaux de recherche et développement plus poussés sont nécessaires pour en améliorer la qualité et la rentabilité.

Références

- Aghel, N., Moghimipour, E., & Raies Dana, A. (2010).** Formulation of a herbal shampoo using total saponins of *Acanthophyllum squarrosum*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 167-172.
- Al Badi, K., Khan, S.A.,(2014).** Formulation, evaluation and comparison of the herbal shampoo with the commercial shampoos. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Science*. (3):301–305.
- Ali, H. S., Rasool, b. K.,(2011).** Formulation and development of herbal shampoo from *Ziziphus spina* leaves extract. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*. 2(6): 1802-1806.
- Aneja, K.R., Joshi, R., Sharma, C., n.d. (2010)** .In Vitro Antimicrobial Activity of *Sapindus mukorossi* and *Emblica officinalis* Against Dental Caries Pathogens.*Ethnobotanical leaflets*. (3).
- Attri, V., Pant, K.S., Singh, N., Negi, V., (2017).** Influence of Seed Size and Pre-Sowing Treatments on Germination Parameters of *Sapindus mukorossi* Gaertn under Laboratory Condition. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* .(6): 2788–2799.
- Bechlem, H. (2018).** Etude phytochimique et biologique de deux plantes médicinales Algériennes, Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle (LMD), Spécialité Analyses physicochimique, Contrôle de la qualité et synthèse de substances bioactives. Université des Frères Mentouri-Constantine : 206P.
- Boutachane, N.(2013).** Etude phytochimique et pharmacologique de plantes médicinales Algériennes *Genista ulcinaspach* (Fabaceae) et *Chrysanthemum macrocarpum* (Sach. Bip) Coss. & *Kralik ex Batt* (Asteraceae). Thèse de Doctorat en sciences, Spécialité Pharmaco-chimie. Université de Constantine .1 : 254P.
- Bruneton, J.(1999)** Plantes médicinales. *Pharmacognosie et phytochimie*, Paris .
- Chen, C. Y., Kuo, P. L., Chen, Y. H., Huang, J. C., Ho, M. L., Lin, R. J., ... & Wang, H. M. (2010).** Tyrosinase inhibition, free radical scavenging, antimicroorganism and anticancer proliferation activities of *Sapindus mukorossi* extracts. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*. 41(2):129-135.
- Fiori, G. M. L., Fachin, A. L., Correa, V. S., Bertoni, B. W., Giuliatti, S., Amui, S. F. & Pereira, A. M. S. (2013).** Antimicrobial activity and rates of tannins in *Stryphnodendron adstringens* Mart. accessions collected in the Brazilian Cerrado. *American Journal of Plant Sciences*. 4(11):2193.
- Ibrahim, M., Khan, A.A., Tiwari, S.K., Habeeb, M.N., Khaja, M.N., Habibullah, C.M. (2006).** Antimicrobial activity of *Sapindus mukorossi* and *Rheum emodi* extracts against *H pylori* : *In vitro* and *in vivo* studies. *WJG* .12(44):7136-7142.

- Ishii, M. K. (1997).** Objective and instrumental methods for evaluation of hair care product efficacy and substantiation of claims. *Cosmetic Science and Technology Series*. 261-302.
- George, B., Shanmugam, S. (2014).** Phytochemical screening and antimicrobial activity of fruit extract of *Sapindus mukorossi*. *Int J Curr Microbiol Appl Sci* .(3) : 604-611.
- Goossens, A., & Lepoittevin, J. P. (2003).** Allergie de contact aux cosmétiques et aux composants de parfums: aspects cliniques, chimiques et diagnostiques nouveaux. *Revue française d'allergologie et d'immunologie clinique*.43(5) : 294-300.
- Klein, K. (2004).** Shampoo formulation: The basics. *Cosmetics and toiletries*, 119(5), 64-68.
- Kondepudi, S. O. M. N. A. T. H. (2011).** Natural Products, Business Model, Dynamics of Herbal Business Industry in India.127-127.
- Lacaille-Dubois, M. A. (2000).** Biologically and Pharmacologically active saponins from plants : recent advances in Saponins in Food, Feedstuffs and Medicinal plants. Marston A. and Oleszek W. *Dordrecht : Kluwer Academic Publishers*.(205)
- Mainker, A. R., & Jolly, C. I. (2001).** Formulation of natural shampoos. *International Journal of cosmetic science*. 23(1): 59-62.
- Mazari, K., Bendianerad, N., Benkhechi Ch et Fernandez, Z. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea* L and *cupressus sempervirens*. *Medical Plant Research*. 4(10): 959-964.
- Masibo, M., He, Q. (2009).** In vitro antimicrobial activity and the major polyphenol in leaf extract of *Mangifera* L. *Malaysian Journal of Microbiology*. 5(2): 73-80.
- Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N. (2013).** Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynarscocyms L*). *Nature et Technologie*.2:35-40.
- Mallo, P., Tabacchi, G., & Boiteux, J. P. (2001).** *U.S. Patent No. 6,197,287*. Washington, DC: U.S. Patent and Trademark Office.
- Moutinho, C. (2013).** Antispasmodic activity of aqueous extracts from *monotha piperita* native from Trás-os-Montes region (poutugal) *International journal of Indigenous medicinal plants*.29(1) :1167-1174.
- Mourice, N. (1997).** Herboristerie d'antan à la phytothérapie moléculaire du XX le siècle. Ed. Lavoisier, Paris. P.12-14.
- Mors, W.B., Do Nascimento, M.C., Pereira, B-M.R., Pereira, N.A. (2000).** Plant natural products active against snake bite: the molecular approach. *phytochemistry*, 55(6): P(627-642).

- Nasrin Aghel, Eskandar Moghimipour, Azadeh Raies Dana (2007).** Formulation of a herbal shampoo using total saponins of *Acanthophyllum squarrosum*. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research* .6(3): 167-172.
- Okoro, I.O., Osagie, A., Asibor, E .O. (2010).** Antioxydant and antimicrobailused as folk remedies in turkey against dermatophytes and yeast-like fungi. *Turkish antioxidant, antibacterial, antimycobacterail, And antifungal activities of some plants journal of biology*.36 :672-686.
- Oumaskour, K., Boujaber, N., Etahiri, S., Assobhei, O.(2012).** Screening of antibacterial and antifungal activities in green and brown algae from the coast of Sidi Bouzid (El Jadida, Morocco). *African Journal OF Biotechnology*.11(104):16831-16837.
- Potluri, A., Shaheda, A. S., Rallapally, N., Durrivel, S., & Harish, G.(2013).** A review on herbs used in anti-dandruff shampoo and its evaluation parameters. *Research Journal of Tropical and Cosmetic Sciences*. 4(1).
- Ponce ,A .J ., Sritz, R, Delville, C et , Rtoura , SI .(2003).** Antimicrobail activity of essential oils , the nature micro flora of argente siffiss CHARD lebemssm. *Wissu-techmol-* 36 :676-684.
- Quattrocchi, U ,(2012) ,** CRC word dictionary of medicinal and poisonous plants : common names, scientific names ,eponyms, synonyms, and etymology (5 Volume Set).CRC press .
- Rakesh, M. R., Ashok, K., Kumar, S. A., & Amitabh, T. (2010).** Formulation of herbal shampoos from *Asparagus racemosus*, *Acacia concin*, *Sapindus mukorossi*. *Int J PharmSciRevRes*, 4, 39-44.
- Rao, M.S., Fazil, M., Sundharshan, R. D., Rasheed, S.A., Pradeep, H. A., and Aleem, M. A. (2012)** Evaluation of protective effect of *Sapindus mukorossi* saponin fraction on CCl₄-induced acute hepatotoxicity in rats. *Clinical and experimental gastroenterology*.5: 129.
- Rasoanaivo, P., Ratsimamanga-Urveg, S.,(1993).** Biological Evaluation of Plants with Reference to the Malagasy Flora. *Monograph of the IFS-NAPRECA Workshop on Bioassays, Antananarivo, Madagascar*. 72-79 .
- Recommandation d'OMS, (2005).** Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. 4eme édition, ALGER. ins Pas. p(95).
- Ronechtti, F., Russo, (1971).** A new alkaloid from *rrouvolfiavomitoriaphytochemistry* .(10):1385-1388.
- Sarethy, I.P., Bhatia, N., Maheshwari, N. (2015).** Antibacterial activity of plant biosurfactant extract from *sapindus mukorossi* and in silico evaluation of its bioactivity. *Int J PharmSci* .(7) : 419-421.
- Salama, S., Khan, M.R & Khan, R.A. (2010) .** Evaluation of antioxidant activities of various solvent extracts of *Carissa opaca* fruit. *Food Chemisty*.122 :1205-1211
- Schlienger, J. L. (2014).** Diabète et phytothérapie: les faits. *Médecine des maladies Métaboliques*. 8(1): 101-106.

Shah, B.N., Seth, A.K., (2010). Textbook of pharmacognosy and phytochemistry. 1^{er} Ed. Elsevier, New Delhi.103-235 PP

Shinde, P. R., Tatiya, A. U., & Surana, S. J. (2013). Formulation development and evaluation of herbal antidandruff shampoo. *Int J Cosmet Sci.* 3(2): 25-33.

Suhagia, B. N.,Rathod, I.S., Sindhu, S.(2011). Sapindus mukorossi (Areetha): anoverview. *International journal of Pharmaceutical Sciences and Research.*2(8) : 1905.

Tian, F., Li, B., Ji, B., Zhang, G., Chen, Y &Luo, Y.(2009).Antionxidant et antimicrobialactivities of consecutiveextractsfrom *Galla chinesis* :the polarity affects the bioactivities.*Food chemistry.*113 :173-179.

Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, G.,Kaur,H.,(2011).Phytochemical screening and Extrction :A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientai* .1(1) : 98-106.

Tsao,R.(2004).Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemical as *Journal of chromatography b.* 812 : 85-89.

Upadhyay, A., Singh, D.K.,(2012). Pharmacological effects of *Sapindus mukorossi*. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 54 : 273-280.

<https://jardinage.ooreka.fr/plante/voir/618/noix-de-lavage-sapindus-mukorossi> consulté le 20 juin 2019.

Annexe

Annexe A :

Tableau 1 : Appareillage, milieu de culture, verrerie et réactifs

Matériel de laboratoire	Réactifs chimique et solvants	Milieu de Culture
-Spectrophotomètre (Biochrom) -Etuve (Memert) -Rota Vapeur Heidolph) -Balance magnétique (KERN440-45N) -Autoclave (WOLF WESKZEUG-VORRICHLUNGSUN 7340 GEISLINGEN) -Agitateur (IKAMAG) -Plaque chauffante -Micropipette -Bec benzène -Ecouvillon -Pince stérilisée -Boîtes de pétries -Vortex (TECHNO KARTELI) -Broyeur (Fritch) -Béchers -Spatule -Pipette pasteur	-Eau distillée -Eau physiologie -Ethanol -Méthanol -Acétone -Hypochlorite de stérile (Eau de javel) - DMSO -Réactif de wagner -sulfate de cuivre -hydroxyde de potassium -anhydride acétique -acide sulfurique -chlorure ferrique -acétat de plomb -acide chloridrique	-Gélose Hekton -Gélose Chapman -Gélose Mueller Hinton -Milieu Extrait de Malt

➤ **Annexe B : Préparations des milieux des cultures**

Gélose Hekteon

Protéose peptone		12g
Extrait de levure	03g	
Chlorure de sodium		05g
Thiosulfat de sodium		05g
Sels biliars		09g
Citrate de fer III et d'ammonium		1,5 g
Lactose		02g
Saccharose	12 g	
Fuschine acide		0,1 g
Bleu de bromothymol		0,065 g
Agar		14 g
Eau distillée		1000 ml

Préparation

Dissoudre 75g /l .Chauffer légèrement et laisser bouillir quelques secondes, ne pas autoclave.

Incubation en stries sur boîte 24 et 48 h à 37 C°.

Gélose Chapman

Peptones		11 g
Extrait de viande		1 g
Chlorure de sodium		75 g
Mannitol	10 g	
Rouge de phénol		0,025 g
Agar	15 g	
Eau distillée	1000 ml	

Préparation

111 g de poudre dans un litre d'eau distillée, Porter à ébullition jusqu'à dissolution complété. Stériliser 15 minutes à 121C° à l'autoclave.

Gélose Muller- Hinton

Extrait des viandes		03g
Hydralysat de caséine		17,5g

Amidon	1,5g
Agar	17g
Eau distillée	1000 ml
PH	7,5 à 7,4

Préparation

31g de poudre par 1 litre d'eau distillée, stérilisation à l'autoclave à 121C° pendant 25 min.

Gélose extrait de levure de malt

Composition

Extrait de malt	30.0 g
Agar	12 à 15 g
PH	5.5

Préparation

42 à 45 g de poudre par 1litre d'eau distillée. Stérilisation à l'autoclave à 120 C° pendant 15 à 20 min.

Annexe C: Photos de l'activité antimicrobienne

➤ Repiquage



Figure C₁: *S.aureus* dans milieu chapman



Figure C₂: *E.coli* dans le milieu hectoen

➤ Coloration de Gram

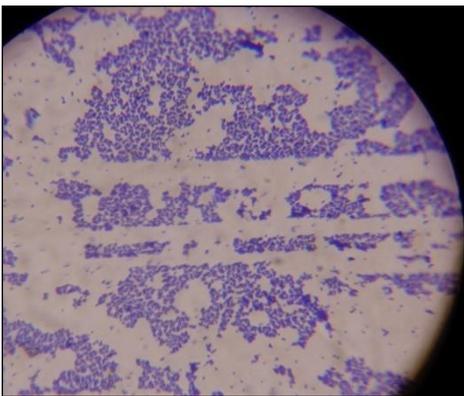


Figure C₃ : Aspect microscopique de *S.aureus*

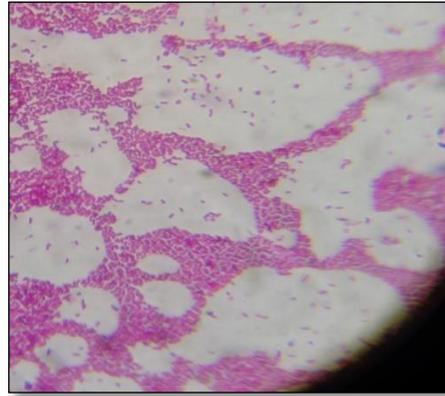


Figure C₄ : Aspect microscopique d'*E.Coli*

➤ Autre photo d'identification

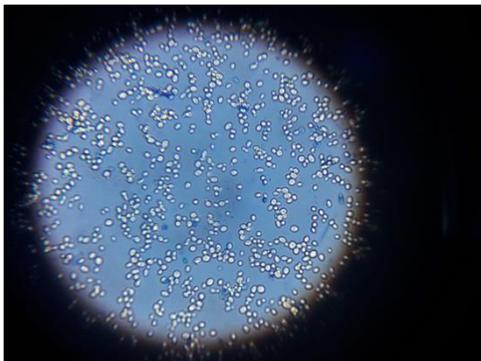


Figure D₅ : Aspect microscopique de *S.cerevisiae*



Figure C₆: culture pure de levure *C.albicans*



Figure C7 : Test catalase pour les bactéries *E .coli* et *S.aureus*

➤ **Ensemencement des souches testé**



Figure C8 : la méthode d'aromatogramme

Annexe D : Préparation des DMSO, *S.cerviceae*, Réactive de Wigner

- **Préparation de l'eau physiologie**

0,9 NACL 100 ml ED puis faire l'agitation ensuite posé dans chaque tube 9ml EP et faire stérilisation par l'autoclave.

- ***Saccaromyces cerviceae***

1g de levure de boulange dans un 9 ml de l'eau distillée incubation pendant 2 heures.

Après L'incubation homogenèse par vortex.

- **DMSO**

20 ml DMSO dans un 80 ml l'eau distillée.

- **Réactive de Wigner**

I₂ 1.27g

KI 02g

L'eau distillée 100 ml

Résumé :

Sapindus mukorossi est un arbre qui appartient à la famille des *Sapindaceae*. C'est une plante médicinale largement utilisée en médecine traditionnelle à des fins thérapeutiques à cause de sa richesse en composés actifs. Cela nous avons conduits, dans la première partie, à l'extraction des composés actifs du fruit de la plante avec le méthanol, l'éthanol et l'acétone, l'analyse phytochimique de la composition de ce fruit, et enfin l'évaluation de l'activité antimicrobienne.

Le screening phytochimique a montré la présence d'une large gamme de métabolites secondaires, tel que : les saponines, les alcaloïdes, les stérols, les tannins, les composés phénoliques et les flavonoïdes. En outre, l'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de fruit de *Sapindus mukorossi* sur deux souches bactériennes Gram positif (*S.aureus*) et Gram négatif (*E. coli*), et deux levures (*Saccharomyces cereviceae* ; *Candida Albicans*) a révélé que la souche a Gram positive (*S.aureus*), et la levure *Saccharomyces cereviceae* se sont révélées très sensible vis-à-vis des extraits, surtout, d'acétone avec des zones d'inhibitions de 30 et 12.5mm, respectivement.

Dans la première partie de notre étude, Nous avons formulés deux shampooings aux herbes naturels, le premier à base de *Sapindus mukorossi* seule et l'autre shampooing à base de *Sapindus mukorossi* et *Daphen gnidium*. Tous les ingrédients utilisés dans la formulation des shampooings sont plus sûrs et biologiques. Notre shampooing préparé a donné des résultats presque comparables à ceux du shampooing vendu sur le marché pour les tests de contrôle de la qualité, mais des travaux de recherche et développement plus poussés sont nécessaires pour en améliorer la qualité et la rentabilité.

Mots clés : *Sapindus mukorossi*, activité antimicrobienne, les saponin, shampooings naturel.

ملخص:

إنه نبات طبي يستخدم على نطاق واسع في الطب. *Sapindaceae* هي شجرة تنتمي إلى عائلة *Sapindus mukorossi* التقليدي للأغراض العلاجية بسبب ثرائه في المركبات النشطة. في الجزء الأول، أجرينا استخراج المركبات النشطة من ثمرة النبات مع الميثانول والإيثانول والأسيتون، والتحليل الكيميائي النباتي لتكوين هذه الفاكهة، وأخيرا التقييم. نشاط مضادات الميكروبات.

أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجود مجموعة واسعة من المستقلبات الثانوية، مثل: سابونين، قلويدات، ستيروول، تانين *Sapindus*، فينوليك وفلافونويد. بالإضافة إلى ذلك، كشفت دراسة للنشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات ثمار *Saccharomyces* و *Candida Albicans* وخمائر *E. coli* وسالبة الجرام (*S.aureus*) على سلالة إيجابية للجرام *Sapindus mukorossi*، وخميرة عنق الرحم (*S.aureus*) أن السلالة الإيجابية للجرام (*Candida Albicans*، *Saccharomyces cereviceae*) كانت حساسة للغاية للمستخلصات، وخاصة الأسيتون مع مناطق تثبيط 12.5 و 30 (*Saccharomyces cereviceae*) مم، على التوالي.

وحده *Sapindus mukorossi* في الجزء الأول من دراستنا، قمنا بصياغة شامبو عشبي طبيعي، أحدهما يعتمد على جميع المكونات المستخدمة في صياغة *Sapindus mukorossi* و *Daphen gnidium* والشامبو الآخر المصنوع من الشامبو هي أكثر أمانا والعضوية. قام الشامبو المعد لدينا بأداء شامبو متوافر تقريبا من أجل اختبار مراقبة الجودة، ولكن هناك حاجة إلى مزيد من البحث والتطوير لتحسين الجودة وفعالية التكلفة.

الكلمات المفتاحية: سبيندوس موكوروسي، نشاط مضاد للميكروبات الصابونين، شامبو طبيعي