

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



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Ecologie Végétale

MEMOIRE DE FIN D'ETUDE

**En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique Et de l'obtention du
diplôme Startup-Brevet dans le cadre de l'arrêté ministériel 1275**

Spécialité : Biologie et physiologie de reproduction végétale

N° d'ordre :

N° de série :

Fabrication du savon à base des saponines de Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*).

Présenté et soutenu par :

Le 04/07/2023

M elle: DRIDI Kaouther

Mem: MIROUD Houssna

Jury d'évaluation :

Encadrante : BOUCHARBEB Radia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Présidente : BOUSBA Ratiba (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur : ZEGHBID Nassim Lotfi (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Année universitaire

2022-2023

Remerciements

*Avant tout, nous remercions Dieu **ALLAH** tout puissant de nous avoir accordé La force, courage et patience pour terminer ce travail.*

*À notre encadreur de mémoire, Mme **BOUCHAREB Radia**, pour avoir acceptée de nous encadrer et je la remercie pour son dynamisme, son aide et ses précieux conseils qui nous ont permis d'avancer plus loin dans cette initiation de recherche.*

*À Mme **BOUSBA Ratiba**, qui a accepté de présider ce mémoire.*

À notre membre de jury Dr ZEGHBID Nassim Lotfi qui nous a fait l'honneur de juger ce travail et qu'il soit le témoignage de notre reconnaissance et notre profond respect

*En guise de reconnaissance, Je remercie Mlle **SEMMAR Rania***

***Narimane** pour son aide et ses conseils*

*Je remercie également M. **Hamdi Mehdi***

Ingénieur au centre de recherche biotechnologie pour son assistance et son soutien pendant la période de stage.

Je tiens à témoigner mes sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de la période de préparation de ma mémoire de fin d'études et à l'élaboration de ce modeste travail.

Toute ma gratitude à mes collègues de promotion ainsi qu'à d'autres étudiants.

Dédicace

*Louange à Allah tout puissant, pour sa miséricorde. C'est lui
qui nous a*

*Créé, c'est lui qui nous a donné le savoir, c'est grâce à lui que le
fruit de mon*

Travail est entre vos mains et je le dédie à :

*À celle qui est sacrifiée pour mon éducation, qui est ma source
de tendresse de don et de confiance qui attendu ma réussite
ma chère mère : Karima*

À mon cher père : Rabeih

À mes adorables frères : Sami et Hayder

À ma chère sœur : Tessnime

À mes grand-mères, À ma famille

*À ma meilleure amie, avec qui j'ai passé les meilleurs moments
: Tahani, Amina, Rayen et Safia.*

À mon cher binôme Hasna

kaouther

Dédicace

Je dédie ce modeste travail de fin d'étude

*À l'âme de mon très cher père **Boudjema***

*Qu'Allah le tout puissant lui accorde sa miséricorde ainsi que
son vaste paradis*

*À ma chère maman **Fatima***

*Celle qui m'a soutenu et encouragé durant toutes ces années
d'études, qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde
reconnaissance*

*À mon cher mari **Oussama***

*Qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'épauler pour que je
puisse atteindre mes objectifs*

À mon fils bien-aimé

*Le petit soleil qui illumine ma vie et ma source de bonheur,
puisse Allah le tout puissant te garder pour moi*

À mes chers frères et mes chères sœurs

*Qui m'ont chaleureusement supporté tout au long de ce
parcours*

À ma famille et mes proches

Ceux qui me donnent de l'amour et de la vivacité

*À toutes mes chères amies **Marwa, Yousra, Safia et Rayan***

*Celles qui ont partagé avec moi les moments d'émotion lors de
la réalisation de ce mémoire*

*À mon chère binôme **kawtar***

Pour son entente et sa sympathie

À tous ceux que j'aime et qui m'aiment

Que ce travail traduit mon affection

Hasna

LISTE DES ABREVIATION

FAO : Food and Agriculture Organization of the United Nations

APG III : classification phylogénétique, est la troisième version de classification botanique des angiospermes.

PDA : Potato Dextrose Agar

MH : gélose muller hinton

NaOH : L'hydroxyde de sodium

HCl : Acide chlorhydrique

KCl : Chlorure de potassium

NaCl : Chlorure de sodium

E.coli: Escherichia coli

FC : Fusarium Culmorum

DMSO : Diméthylsulfoxyde

ANOVA : Analysis of Variance

DPPH : Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl

ABTS : Test de l'activité antiradicalaire pour le radical

Liste des tableaux

Numéro	Titre	page
Tableau 01	Classification scientifique du Quinoa (Herbillon, 2015).	5
Tableau 02	Souches bactériennes et fongiques utilisées.	14
Tableau 03	Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h.	28
Tableau 04	Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (mm) après 24 h.	30
Tableau 05	Croissance mycélienne de <i>Fusarium culmorum</i> le 5eme en présence de saponine de Quinoa	33
Tableau 06	Teneur en polyphenols totaux et en polyphenol	34
Tableau 07	Activité antiradicalaire contre le DPPH	35
Tableau 08	Activité anti-radicalaire contre le radical ABTS	36

Liste des figures

Numéro	Titre	page
Figure 01	Répartition géographique de quinoa (FAO & CIRAD, 2015)	4
Figure 02	A : Grains de <i>Chenopodium Quinoa</i> (Tang et Tsao, 2017). B : Structure la graine de C. Quinoa (FAO, 2015).	6
Figure 03	Classification de Saponines	7
Figure 04	le <i>Fusarium culmorum</i> (Elhouiti, 2018).	13
Figure 05	Poudre de saponine de l'espèce Quinoa (<i>Chenopodium quinoa</i> Willd).	14
Figure 06	Extraction des saponines (la photo originale).	15
Figure 07	Les tubes chauffés dans le Bain-Marie (la photo originale).	16
Figure 08	Les disques du papier (la photo originale).	18
Figure 09	Graphique de Diamètre moyens de la zone d'inhibition de sous l'effet de Différentes concentrations de l'extrait et sp en (mm) sur l' <i>Escherichia Coli</i> .	29
Figure 10	Activité inhibitrice in vitro de saponine poudre sur l' <i>Escherichia Coli</i>	29
Figure 11	Activité inhibitrice in vitro de l'Extrait sur l' <i>Escherichia Coli</i>	30
Figure 12	Graphique de Diamètre moyens de la zone d'inhibition de sous l'effet de différentes concentrations de l'extrait et sp en (mm) sur <i>Klasiell</i>	31
Figure 13	Activité inhibitrice in vitro de l'Extrait sur <i>Klasiella pneumoniae</i>	31
Figure 14	Activité inhibitrice in vitro de l'Extrait sur <i>Klasiella pneumoniae</i>	31
Figure 15	Activité inhibitrice in vitro de saponine poudre sur <i>Klasiella pneumoniae</i>	33
Figure 16	Histogramme de l'activité anti-inflammatoire	37

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Listes des abréviations

Listes des tableaux

Listes des figures

Introduction

Partie 1 : Synthèse bibliographique

1. Aperçu historique	3
2. Classification scientifique de quinoa	4
3. Description botanique	5
4. Les saponines.....	6
5. Les activités biologiques.....	8
5.1. Activité antimicrobienne	8
5.2. Activité antifongique	8
5.3. L'effet anti-inflammatoire	9
5.4. activité anti oxydant.....	10
5.4.1. Quelques activités biologiques antioxydantes.....	10
5.4.2. Les antioxydants non enzymatiques.....	11
6. Les souches biologiques.....	12
6.1. Les souches bactériennes.....	12
6.1.1. Escherichia coli.....	12
6.1.2. Klebsiella pneumoniae	12
6.2. Les souches fongiques.....	13
6.2.1. Fusarium culmorum	13

Partie 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel	14
1.1. Matériel végétale.....	14
1.2. Matériel biologique.....	14
2. Méthodes.....	15
2.1. Extraction des saponines	15
2.1.1. Extraction alcaline.....	15
2.1.2. Extraction éthanolique.....	16
2.2. Dosage des saponines totaux	16
2.3. Les activités biologiques	17
2.3.1. Activité antimicrobiennes	17
2.3.2. Evaluation de l'activité antifongique	19
2.3.3. l'activité Anti-inflammatoire in-vitro	21
2.3.4. L'activité Anti- oxydant	22
2.3.4.1 Activité biologie	22

2.3.4.2 Activité biologie : Dosage des Flavonols	24
2.3.4.3. Activité biologie : DPPH radical libre	25
2.3.4.4. Activité biologie : ABTS scavengingactivity.....	26
3.Analyse statistique.....	27

Partie 3 : Résultats et discussion

1. Les activités biologiques	28
1.1. L'activité anti bactérienne	28
1.1.1. Escherichia Coli.....	28
1.2. Klebsiella pneumoniae.....	30
2.L'effet antifongique	32
3. L'effet antioxydant	34
3.1. Les polyphénols	34
3.2. Test DPPH.....	35
3.3. Test ABTS	36
4. L'effet anti-inflammatoire	37
Conclusion.....	38
Références bibliographiques.....	39

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction

Introduction

L'homme participe sans le savoir au développement d'armes biologiques, encore plus dangereuses que les armes nucléaires ou chimiques. Cette arme biologique ne nécessite pas de technologie avancée ni de transport pour se déplacer d'un endroit à l'autre ; Microbes responsables des maladies infectieuses les plus graves a pris la vie d'un homme. Les bactéries en constituent une très grande partie.

Le développement de la résistance bactérienne aux antibiotiques est une menace majeure présente un risque pour la santé publique en raison de l'automédication et de l'utilisation excessive et inconsciente d'antibiotiques. En outre, la connaissance et la sensibilisation aux problèmes liés à l'utilisation ont augmenté antibiotiques stimulent les efforts de recherche pour trouver des alternatives (**Hasan et al., 2010**).

L'inflammation chronique est également un problème courant qui doit être traité agents anti-inflammatoires réguliers.

Cependant, il convient de noter que la limitation majeure des anti-inflammatoires commercialisés réside dans leurs effets secondaires indésirables, notamment Ulcération. Dans ce contexte, des recherches sont menées sur de nouveaux agents anti-inflammatoires montre un intérêt particulier pour les produits d'origine végétale (**Hebillon, 2015**).

Les plantes médicinales, connues par leurs métabolites secondaires, en particulier leur Les défenses contre les facteurs externes sont un moyen efficace de guérir de nombreuses maladies chez l'homme.

Certaines plantes utilisées pour leurs effets bénéfiques peuvent avoir des effets à fortes doses toxicité humaine (**Haddouchi et al. 2016**).

La recherche de nouvelles molécules bioactives plus fortes et moins toxiques L'homme, surtout d'origine naturelle, s'est avéré nécessaire et est maintenant un objet études différentes.

Pour ce travail, la plante choisie est *Chenopodium quinoa Willd* est une plante herbacée annuelle de la famille des **Amaranthaceae**. Une plante très riche en composés bioactifs, et surtout en saponines qui en font la majorité.

Notre étude a pour objectifs d'étudier phytochimique et activités biologique des saponines de l'espèce Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*).

Cette étude a été divisée en trois parties :

- La première partie, est consacrée à une synthèse bibliographique concernant le thème de travail,
- La deuxième partie est la partie expérimentale, elle est formée de Matériel et méthodes.
- La troisième parties Résultats et discussion

Partie 1

Synthèse bibliographique

1. Aperçu historique

Le Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*) est une plante herbacée annuelle de la famille des Amaranthaceae. Originaire de la région andine de l'Amérique du Sud ; existait depuis l'antiquité et domestiquée par l'homme habitant les Andes, principalement au Pérou et en Bolivie, depuis des milliers d'années. **(Spehar et Santos, 2002).**

Malgré ses caractéristiques céréalières, n'appartenant pas à la famille des graminées, le quinoa possède des aspects botaniques tels que la présence d'inflorescences de type panicule et d'exceptionnelles équilibre nutritionnel protéique et lipidique, teneur élevée en protéines, acides aminés soufrés et lysine, il est désignée comme une « pseudo-céréale » et même une pseudo-graine » oléagineuse **(Farro et al., 2008).**

Selon les traces archéologiques découvertes dans les grottes d'Ayacucho au Pérou **(Del Castillo et al., 2008).**

Le quinoa est une plante originaire des Andes, et plus précisément des alentours du lac Titicaca, entre le Pérou et la Bolivie. Le quinoa constituait un aliment de base des populations précolombiennes ; il fut néanmoins remplacé par les céréales à l'arrivée des Espagnols **(Mujica et al., 2001).**

D'après les témoignages historiques, Le quinoa aurait été domestiqué il y a plus de 7000 ans par les peuples andins. Le quinoa a été cultivé par les agriculteurs dans l'Amérique latine et les plus anciens vestiges de quinoa ont été retrouvés à Ayacucho au Pérou et dataient de plus de 5000 ans avant J-C **(Bhargava et al., 2013 ; Herbillon, 2015).**

Le bouleversement de l'histoire qui nous intéresse a eu lieu à la seconde moitié du XXe siècle, lorsque son potentiel a été redécouvert. Le quinoa est alors devenu un produit alimentaire populaire, en particulier en Europe et en Amérique du Nord, mais aussi dans les régions urbaines andines. Il est apprécié pour ses propriétés diététiques, pour son agriculture biologique et les principes du commerce équitable. Dès les années 80, la production de quinoa, dédiée à la consommation par l'homme, a donc grimpé remarquablement en raison de la demande croissante régionale et internationale **(Marcelo, 2016).**

Le nombre de pays la cultivant a augmenté de 8 en 1980 à 95 en 2015. A chaque étape de cette propagation mondiale, le nombre de centres de recherche qui étudient la culture et effectuant des

expériences augmente, résultant dans une coopération internationale qui génère de nombreux projets (Marcelo, 2016) **Figure 01.**

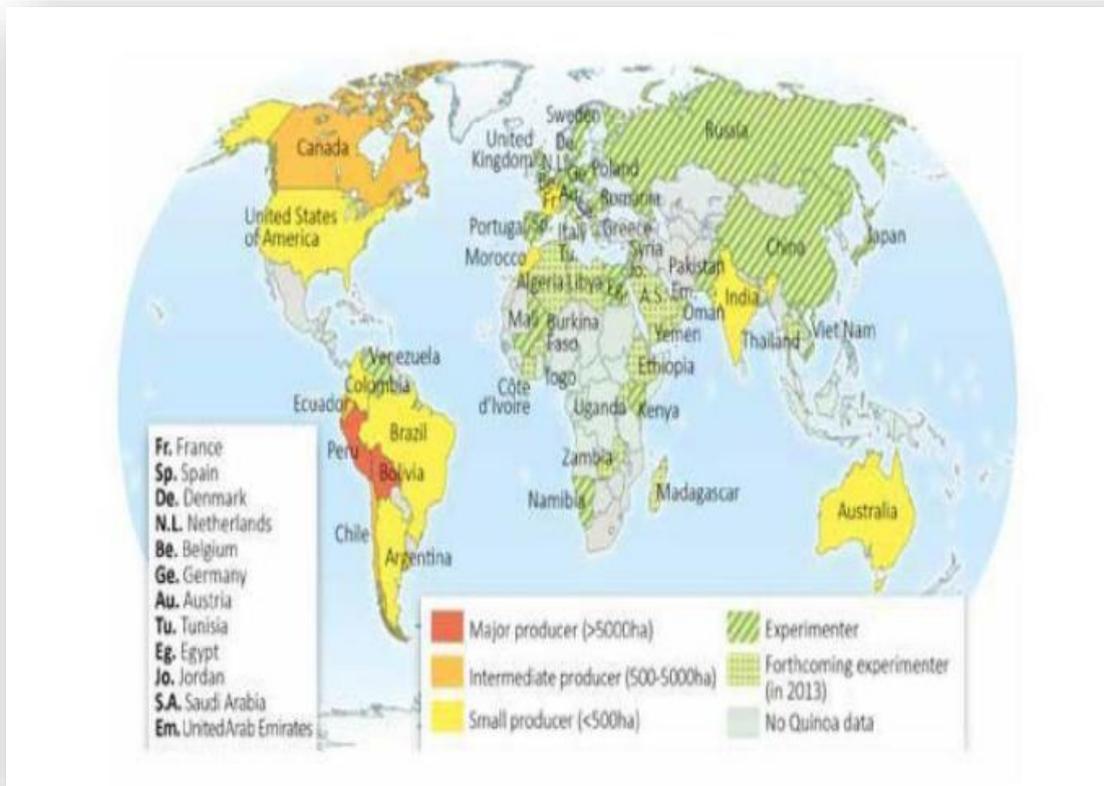


Figure 01. Répartition géographique de quinoa (FAO & CIRAD, 2015)

2. Classification scientifique de quinoa

Le quinoa appartient au genre *Chenopodium* qui contient environ 250 espèces. On connaît environ 1800 variétés de quinoa (Sophie Foucault, 2014).

Depuis 2009, une nouvelle classification dite phylogénétique (APG III) range le quinoa dans la famille des Amaranthaceae.

Tableau 01. Classification scientifique du Quinoa (Herbillon, 2015).

Classification Cronquist (1981)	
Régne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsidae
Classe	Caryophyllidae
Ordre	Caryophyllales
Famille	Chenopodiaceae
Genre	Chenopodium
Classification APG III (2009)	
Ordre	Caryophyllales
Famille	Amaranthaceae
Nom binomial	
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd., 1798	

3. Description botanique

Le quinoa (*C. quinoa*) est une plante dicotylédone, herbacée, annuelle (Yazar et İnce Kaya, 2014), sa longueur entre 50cm et 2m (Herbillon, 2015) la couleur prédominante de la plante est verte mais chez les plantes adultes, les couleurs de base sont rouges, pourpre et vert, selon le génotype (Del Castillo et al., 2008).

Le grain

Le fruit est un akène (Del Castillo et al., 2008 ; FAO, 2011). Un grain pouvant atteindre jusqu'à 2.66 mm de diamètre selon la variété (FAO, 2011), qui pourraient être réparties dans trois catégories de taille : grande taille (2.2 à 2.6 mm). Taille moyenne (1.8 à 2.1 mm) et petite taille (<1.8 mm) (Herbillon, 2015). Sont de couleur blanche, jaune, rouge, pourpre, café ou noire (FAO, 1994), dans lequel l'embryon périphérique entoure le péricarpe central (tissus de réserve), et se trouve couvert par le péricarpe et deux assises tégumentaires (Prego et al, 1998). Le péricarpe contient de la saponine en plus ou moins grande quantité et, bien que chez certaines variétés (formes cultivées), il soit séparé facilement, dans d'autres (formes sauvages), il reste difficile à éliminer. La combinaison

des couleurs du péricarpe et du tégument de la graine donne la vaste gamme de couleurs que peuvent présenter les panicules (Tapia et al.,1979 ; Lescano 1994 ; Izquierdo et al., 2001).

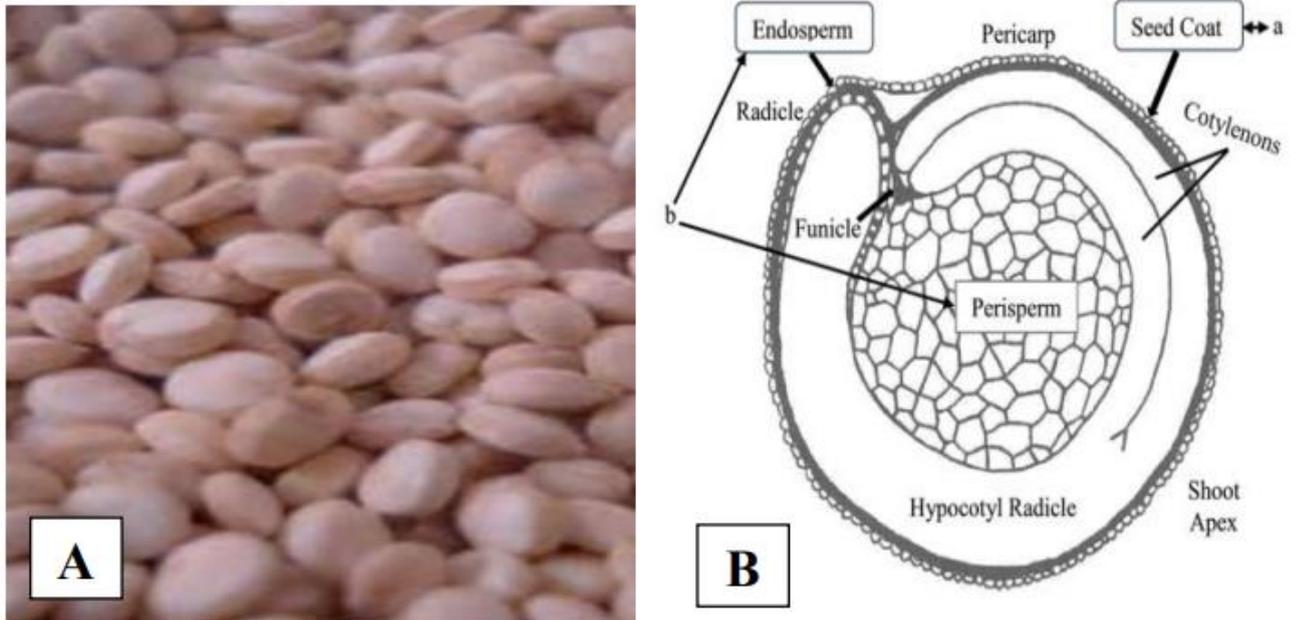


Figure 02. A : Grains de *Chenopodium Quinoa* (Tang et Tsao, 2017).

B : Structure la graine de C. Quinoa (FAO, 2015).

4. Les saponines

Les saponines sont avant tout des métabolites secondaires dont la fonction principale est de protéger les plantes des agressions naturelles en s'accumulant dans les zones les plus vulnérables aux attaques de champignons, d'insectes ou d'oiseaux. Par conséquent, ils ont été détectés dans toutes les parties de la plante de quinoa, feuilles, fleurs, fruits et téguments (Mizui et al., 1988, 1990 ; Cuadrado et al., 1995 ; Mastebroek et al., 2000 ; Kuljanabhagavad et al., 2008).

Les saponines sont un groupe de composés glycosides naturels largement distribués dans le règne végétal. Ils ont été signalés comme étant présents dans près de 500 espèces végétales dans plus de 90 familles (Basu et Rastogi, 1967 ; Chandel et Rastogi, 1980 ; Price et Johnson, 1987), situées dans la couche externe de la coquille, et ces composés ont les propriétés communes suivantes du surfactant d'être soluble dans l'eau et de former des solutions moussantes lors de l'agitation les distinguent des autres glycosides (Agarwal et Rastogi, 1974 ; Tyler et al., 1981). Leur nom vient d'une plante appelée saponaire (*Saponaria officinalis L.*), dont les racines sont largement utilisées

comme savon depuis des siècles. De ce fait, les plantes contenant des saponines sont recherchées dans les produits ménagers (**Bruneton, 2009**).

Les saponines sont des glycosides composés d'un aglycone auquel une ou plusieurs chaînes de sucre sont attachées. Ce sont des composés amphiphiles, l'aglycone constituant la partie lipophile et le sucre représentant la partie hydrophile (**Wink, 2004**).

Elles sont généralement classées en deux groupes

1. Le premier groupe : est constitué de saponines stéroïdiennes, présentes essentiellement chez les angiospermes monocotylédones.
2. Le deuxième groupe : est représenté par les saponines triterpéniques. Ce sont les Plus fréquentes et elles se produisent surtout dans les angiospermes dicotylédones (**Sparg et al., 2004**).

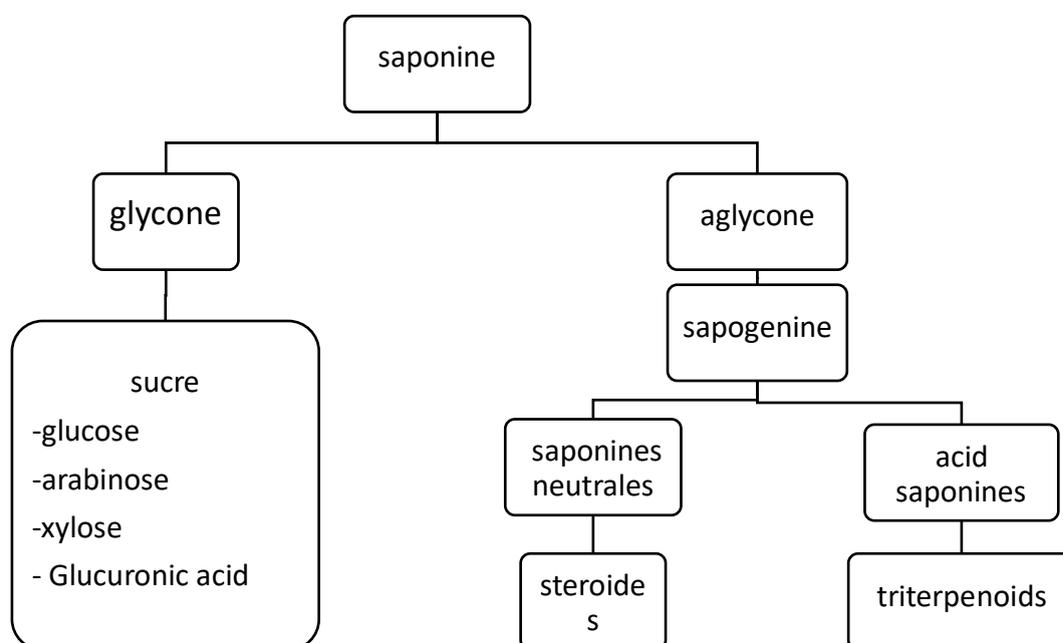


Figure 03. Classification de Saponines

Les saponines du quinoa sont exclusivement triterpéniques et sont donc constituées d'un aglycone triterpénoïde composé d'un squelette en C30 pentacyclique. Ce sont des composés très polaires avec des poids moléculaires relativement grands et qui se produisent sous la forme de mélanges complexes. Quatre aglycones différents ont d'abord été mis en évidence.

- L'acide oléanique, majoritaire dans les graines.
- L'acide phytolaccagénique.
- L'hédéragénine.
- Et l'acide serjanique. (**Kuljanabhagavad et Wink, 2009**).

5. Les activités biologiques

Les saponines sont responsables du goût amer caractéristique des graines de quinoa et sont considérées comme toxiques en grandes quantités (Gee *et al.*, 1993 ; Ruales & Nair, 1993).

Avant consommation, les graines doivent donc subir un traitement d'élimination de l'enveloppe dans laquelle les saponines sont particulièrement concentrées. Bien qu'elles donnent un mauvais goût à la plante, les saponines ont une variété d'effets biologiques, notamment des activités antifongiques, antivirales, anticancéreuses, hypercholestérolémie, hypoglycémiantes, antithrombotiques, diurétiques et anti-inflammatoires (Vega-Galvez *et al.*, 2010).

5.1. Activité antimicrobienne

Les saponines de *C. quinoa* sont avant tout localisées dans la couche externe de la graine, notamment le péricarpe (Herbillon, 2015). Elles confèrent aux grains un goût amer, ce qui nécessite une réduction par des procédés abrasifs ou un lavage avant la consommation (Laus *et al.*, 2012). Cependant elles ont été reportées pour leur activité antimicrobienne (Kuljanabhagavad *et Wink*, 2009). Les enquêtes sur les activités biologiques et pharmacologiques des saponines de *C. quinoa* montrent une inhibition de la croissance des champignons et des virus, ses extraits sont utilisés en agriculture pour le contrôle et la prévention des maladies fongiques et virales qui touchent les plantes (Villa *et al.*, 2014), un effet contre *Botrytis cinerea* par exemple, agent causal de la moisissure grise des fruits (Stuardo *et San Martín*, 2008). On a signalé que le mélange de saponines totales de quinoa avait une activité contre les levures (Woldemichael *et Wink*, 2001). Des concentrations plus élevées peuvent complètement lyser les champignons et les bactéries (Wink, 2015).

5.2. Activité antifongique

Les saponines du quinoa ont une activité antifongique prononcée, inhibant la croissance de *Candida albicans*. Cet effet a été observé dans un mélange brut de saponines, les saponines pures individuelles montrant peu d'activité, ce qui suggère un effet synergique (Woldemichael *et Wink*, 2001)

En outre, la croissance mycélienne et la germination des mycélium n'ont été significativement inhibées qu'après un traitement alcalin. Récemment, les saponines de quinoa ont montré une activité contre *Botrytis cinerea*, et l'on suppose que ce processus entraîne la formation de dérivés de saponines plus hydrophobes ayant une plus grande affinité pour les stérols présents dans la membrane cellulaire. L'activité antifongique des saponines s'est généralement révélée inférieure à celle des aglycones seuls.

L'activité antifongique des saponines s'est généralement révélée inférieure à celle des aglycones seuls. La présence de chaînes glucidiques en C3 s'est révélée particulièrement importante non seulement pour les propriétés antifongiques des saponines, mais aussi pour leur perméabilité membranaire (**Stuardo et San Martín., 2008**).

Salon **Woldemichael et Wink., (2001)** ont constaté que l'activité antifongique était plus prononcée pour les saponines comportant d'une chaîne glucidique.

Les propriétés antifongiques de quinoa ont également été confirmées contre *Botrytis Cinerea* (avec traitement alcalin), l'expérience consiste en six tests de produit contre *B. Cinerea* :

- 1- Extrait brut de quinoa (non raffiné).
- 2- Extrait de quinoa raffiné.
- Extrait de quinoa raffiné sans alcalin.
- 3- Extrait de quinoa raffiné sous traitement alcalin.
- 4- Extrait de quinoa non raffiné sous traitement alcalin.
- 5- Extrait de quinoa purifié avec traitement alcalin sans incubation.

Les échantillons prélevés sans traitement ont montré un effet antifongique plus faible que ceux prélevés avec un traitement alcalin, et la croissance mycélienne a été clairement inhibée (**Stuardo M et San Martín R., 2008**).

5.3. L'effet anti-inflammatoire

Plusieurs rapports indiquent que de nombreuses plantes contenant des saponines ont une activité anti-inflammatoire.

La fraction de Saponine des graines de quinoa originaires de Chine a montré une activité anti-inflammatoire contre les cellules macrophages murines stimulées par la toxine LPS (Lipopolysaccharide) qui favorise la libération de cytokines pro-inflammatoires (**Yang et al., 2013**).

Pour étudier les effets inflammatoires suggérés (**Yang et al., 2013**), quatre fractions alcooliques de saponines de graines de quinoa cultivées en Chine à différentes concentrations (Q 50) (Q 70) (Q 90) > (Q 30) contre des systèmes cellulaires de macrophages murins stimulés par des lipopolysaccharides (LPS). Les effets ont été évalués et les résultats ont confirmé la capacité des saponines à réduire la production de NO et à inhiber la libération de cytokines inflammatoires.

L'effet inhibiteur sur la production de NO était inférieur à 25% a été observé à une concentration de saponine de 100µg/ml, et cet effet augmentait proportionnellement à la dose. En revanche, quatre fractions ont été significativement inhibées à une concentration de 200µg/ml, affectant 80%, 66%, 49% et 33%. Cette activité a été principalement attribuée aux saponines triterpéniques (Yang et al., 2013).

5.4.activité anti oxydant

Les composés bioactifs aux propriétés lipophiles (tocophérols,caroténoïdes) et hydrophile (acides phénoliques,flavonoïdes,bétalaines) sont abondants dans les graines de quinoa et présentent des propriétés antioxydantes (Harbillon.,2015).

Les phénols d'origine végétale auraient des propriétés anti oxydant c'est -a-dire la capacité d'éliminer les radicaux libres (Shahidi et Ambigaipalan., 2015) ; l'acide oléonique dans différentes parties de la plante de quinoa, sur la base d'études antérieures sur la capacité antioxydant de différentes parties du quinoa, l'hédéragénine et l'acide phytolaccagénique, une méthode d'analyse simultanée a été développée et validée par GC/Ms/Ms pour l'espece *Chenopodium quinoa Willd* , ce qui démontre la présence d'antioxydants dans les pousses et d'autres parties de la plante.

L'étude a conclu les saponines totales étaient plus élevée dans les racines, tandis que les polyphénols et les flavoïdes étaient plus élevés dans le son de quinoa. Les racines de quinoa contiennent les saponines totales les plus élevées avec la capacité antioxydante la plus élevée, ainsi que les grains de *Chenopodium quinoa Willd* (Jeong Gyu Jim et al., 2019).

Selon de Simone et al., (1990) ; le quinoa contient des glycosides de flavol, des phénol, des tanins, de la betaïne, des terpinoïdes et des ecdysteroïdes.

5.4.1. Quelques activités biologiques antioxydantes

➤ Test du 2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl (DPPH)

Le teste de DPPH est le plus ancien des tests indirects pour détermination de l'activité antioxydante. Le DPPH a été suggéré la première fois en 1950 comme un produit naturel donneur de proton Plus tard, le test a été quantifié pour déterminer le potentiel antioxydant des composés phénoliques individuels et de la nourriture ainsi que des échantillons d'intérêt biologique (Roginsky et Lissi, 2005) Le radical DPPH porte une couleur pourpre foncé est c'est l'un des rares radicaux d'azote organique stable.

Le radical libre stable 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle (a,a-diphényl-β-picrylhydrazyle) fut l'un

des premiers radicaux libres utilisé pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques (**Blois, 1958 ; Brand-Williams *et al*, 1995**). La stabilité de ce radical résulte de la délocalisation importante de l'électron célibataire sur la totalité de la molécule empêchant ainsi la dimérisation de se produire comme c'est souvent le cas pour les autres radicaux. D'autre part, cette délocalisation est à l'origine de la coloration violette en solution éthanolique ou méthanolique caractérisée par une bande d'absorption dans le visible à 517 nm.

➤ **C**Test de l'activité antiradicalaire pour le radical ABTS^{•+}

L'acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique) est un radical libre et stable très utilisé pour l'évaluation du pouvoir antioxydant des fluides biologiques, des mélanges complexes ou bien des composés purs. Ce radical est capable de réagir avec des antioxydants classiques de type phénols et thiols mais aussi avec tout composé donneur d'hydrogène ou d'électron (**Rice-Evans et Miller, 1994 ; Rice-Evans et al 1995**).

5.4.2. Les antioxydants non enzymatiques

Le glutathion est un tripeptide composé de cystéine, glutamine et glycine. C'est la plus importante des défenses antioxydantes en quantité et probablement en qualité. Il possède une activité antioxydante propre mais surtout en tant que cofacteur de la glutathion peroxydase. Une fois oxydé en glutathion disulfure, il est réduit par le glutathion réductase en présence de NADPH. Le couple glutathion disulfure/glutathion est le principal responsable thiol de la balance redox intracellulaire (**Ichai *et al*, 2011**).

Les vitamines A, C et E ont aussi des propriétés antioxydantes. Les vitamines C et E permettent leur régénération mutuelle après oxydation (Article) (**Ichai *et al*, 2011**). En ce qui concerne les plantes médicinales bien connues et économiquement importantes, nous pouvons citer l'ail (*Allium sativum* L ; Liliaceae) et le ginkgo (*Ginkgo biloba* L ; Ginkgoaceae) qui sont utilisés dans le traitement des maladies cardio-vasculaires et circulatoires (**Igor, 2002**) pour leurs métabolites secondaires qui jouent le rôle d'antioxydant on peut citer comme exemple :

- **Les flavonoïdes** : Les relations structure activités antioxydantes des flavonoïdes et des composés phénoliques ont montré que l'activité antioxydante était déterminée par la position et le degré d'hydroxylation (**Igor, 2002**).
- **Les tanins** : ce sont des donneurs de protons aux radicaux libres lipidiques produits au cours de la peroxydation. Des radicaux tanniques plus stables sont alors formés, ce qui a pour conséquence de stopper la réaction en chaîne de l'auto oxydation des lipides (**Cavin, 1999**).

- **Les coumarines** : les coumarines sont capables de prévenir la peroxydation des lipides membranaires et de capter les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes.

Les conditions structurales requise pour l'activité antiperoxydante des coumarines sont similaires à celles signalées pour les flavonoïdes (**Igor, 2002**).

- **Les phénols** : Parmi les dérivés phénoliques, le resvératrol est le composé qui est le plus étudié. En effet, ce stilbène, isolé du raisin possède de fortes propriétés antioxydantes (**Igor, 2002**).
- **Les xanthones** : La manguiférine est une xanthone qui possède la propriété d'inhibition envers la peroxydation des lipides, ainsi que des propriétés de capteurs de radicaux libres contre les anions super oxydes (**Diallo, 2005**

6. Les souches biologiques

6.1. Les souches bactériennes

6.1.1. *Escherichia coli*

- a) Caractères bactériologiques C'est un hôte normal du tube digestif de l'homme et des animaux (**Avril et al., 1992**), *E. coli* est un bacille à Gram négatif. Il se développe sur gélose ordinaire, produit l'indole, fermente le lactose (**Fauchère et Avril., 2002**). Les colonies ont en moyenne 2mm de diamètre, elles sont rondes, plates et à bords réguliers (**Joly et Reynaud, 2003**).
- b) Pouvoir pathogène *E. coli* est fréquemment impliqué en pathologie infectieuse aussi bien en milieu hospitalier (**Lavigne et al., 2002**). Elle possède des propriétés particulières (pouvoir d'adhésion, production de toxines) nécessaires au pouvoir infectieux (**Joly et Reynaud, 2003**).

6.1.2. *Klebsiella pneumoniae*

- a) Habitat Elles sont fréquemment isolées des eaux, du sol et des végétaux. Elles sont présentes dans la flore fécale de l'homme et sont souvent commensales de la peau, des muqueuses et des voies respiratoires (**Schaechter et al., 1999**).
- b) Caractères bactériologiques et biochimiques Bacille, Gram négatif, les colonies généralement rondes, de 3 à 4mm de diamètre, bombées, muqueuses et ayant une tendance à la confluence (**Denis et al., 2007**), elle est lactose (+), uréase (+), VP (+), ONPG (+), LDC (+), glucose (+) et gaz (+) (**Avril et al.,1992**).

- c) Pouvoir pathogène Les *K. pneumoniae* sont isolées de broncho-pneumopathies aiguës ou subaiguës, mais aussi d'infections urinaires, hépato-biliaires ou de pus divers (Schaechter et al, 1999).

6.2. Les souches fongiques

6.2.1. *Fusarium culmorum*

F.culmorum C'est un agent phytopathogène responsable de plusieurs symptômes notamment la fonte de semi, la pourriture racinaire, la fusariose de l'épi, la pourriture de la tige. Il se caractérise par une croissance rapide sur géloses, PDA et au MALT. Les colonies sont duveteuses, blanches à jaunâtres ou rose puis ocracées à rouge brunâtre et le revers est rouge à pourpre.

Les phialides courtes et larges, formées sur le mycélium aérien, sont groupées en sporodochies. Les microconidies sont absentes. Les macroconidies sont fusiformes, courbées et septées. La cellule apicale est courte et pointue. Les chlamydospores intercalaires ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, sont sub-globuleuses, brunâtres, lisses ou verruqueuses (Elhouiti, 2018).

Les espèces de *F. culmorum* sont des producteurs importants de trichothécènes du groupe B, appelé aussi vomitoxine, ils produisent également la zéaralénone.

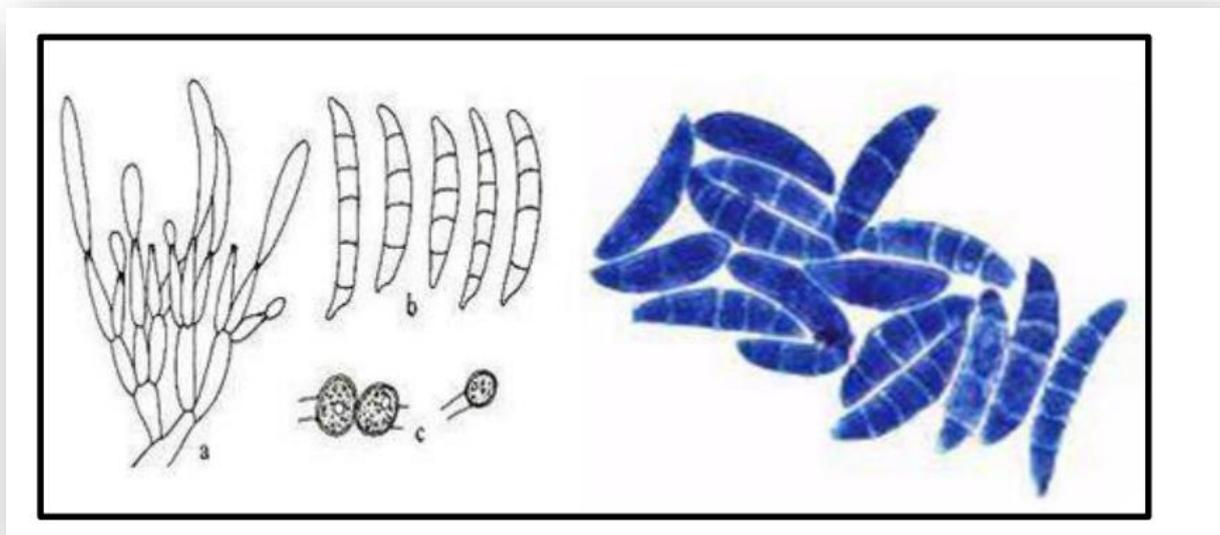


Figure 04 : le *Fusarium culmorum* (Elhouiti, 2018).

a) macrophialides et macroconidies ;b) macroconidies ;c)chlamydospores.

Partie 2

Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Matériel végétale

Cette étude se porte sur les saponines de quelques variétés de l'espèce Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*) Figure 05.



Figure 05. Poudre de saponine de l'espèce Quinoa (*Chenopodium quinoa Willd*).

1.2. Matériel biologique

Tableau 02. Souches bactériennes et fongiques utilisées.

Souches bactériennes	Souches fongiques
Gram-positives	<i>Fusarium culmorum</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 1705	

ATCC : American Type Culture Collectio

2.Méthodes

2.1. Extraction des saponines

2.1.1. Extraction alcaline

Le quinoa a été **traité avec de l'alcalin (San martin 2007)**. Dans le but de convertir les saponines bidesmosidiques en saponines monodesmosidiques, en se basant sur les conditions d'hydrolyse rapportées pour études structurales des saponines de quinoa.

Le mélange réactionnel contenait 1 part de coques de quinoa (en poids) et 5 parties de 0,5 N NaOH. Le mélange a été maintenu à 95-100 °C pendant 2 h sous agitation et à reflux. **Figure06.**

Ces conditions se sont avérées maximiser la disparition des saponines originales du quinoa.

Une fois le traitement alcalin terminé, le mélange a été refroidi à la température ambiante et de l'acide HCl (37 %) a été ajouté pour amener l'extrait à un pH de 7.

Le mélange a ensuite été séché à 70°C pour atteindre une teneur en humidité d'environ 8-10% p/p.



Figure06. Extraction des saponines (la photo originale).

2.1.2. Extraction éthanolique

Préparation de L'extrait hydroalcoolique

Le procédé d'extraction a été réalisé par macération. Les poudres ont été extraite par macération par le système solvant Ethanol / eau (70/30) (3x1000 ml) sous agitation magnétique. L'extraction est assistée par ultrasons (Fisher scientific fb15046, Leicestershire, Angleterre) pendant 60 minutes à une température ambiante, avec renouvellement du solvant chaque 24h. Les extraits combinés et filtrés sur papier filtre ont été concentrés dans un évaporateur rotatif sous vide à une température <40°C (Buchi R-200, Medellin, Colombia) (Zeghad, 2018). Après séchage des extraits, les rendements exprimés en (%) par rapport à la masse initiale de la poudre soumise à l'extraction, sont calculé selon la formule suivante :

$$R (\%) = [M / M_0] \times 100$$

2.2. Dosage des saponines totaux

La teneur totale en la teneur en saponine a été mesurée selon Medina meza et *al.*, 2016. Un extrait de saponine (250 µL) a été placé dans un tube avec 1000 µL du mélange de réactifs (acide acétique glacial/acide sulfurique 1 :1 v/v) pour le développement de la couleur, vortexé vigoureusement (30 s), puis chauffé à 60 °C pendant 30 min **figure 07**, pendant lesquelles une couleur violette a été développée ; ensuite, le mélange a été refroidi dans de l'eau glacée. L'absorbance à 527 nm a été mesurée.

L'acide acétique glacial a été utilisé comme blanc.

La teneur totale en saponine a été obtenue par comparaison avec une courbe standard d'acide oléanolique (100 µg/ml à 1000 µg/ml), les résultats étant exprimés en g/100g d'équivalent acide oléanolique.



Figure07. Les tubes chauffés dans le Bain-Marie (la photo originale).

2.3. Les activités biologiques

2.3.1. Activité antimicrobiennes (l'extrait utilisé dans cette expérience est **Extrait alcalin)**

➤ **Milieux de culture liquide des bactéries**

Le bouillon nutritif est un milieu de culture liquide le plus usuellement utilisé en bactériologie.

Généralement distribué dans les tubes à essais, il favorise une croissance rapide de micro-organismes étudiés.

➤ **Préparation milieux d'isolement des bactéries**

Le milieu utilisé pour revivifier les souches bactériennes est une gélose muller hinton, Il se compose d'une base (Hydrolysate acide de caséine, extrait de viande, amidon, calcium magnésium, agar, eau) (23g/l).

Puis, a été stérilisé à 120°C pendant 20 min dans un autoclavage.

➤ **Étude de l'activité d'un principe actif sur une souche bactérienne**

La méthode des disques consiste à poser sur la surface d'un milieu gélosé ensemencé de micro-organismes, des disques de papier filtre desséchés et imprégnés des substances à tester.

Les disques sont déposés à égale distance l'un de l'autre.

Les substances contenues dans les disques diffusent dans le milieu et peuvent influencer la croissance des micro-organismes.

Au bout de 24 heures d'incubation, ou 36 heures un cercle d'activité (zone d'inhibition) de chaque disque est observé dans le milieu qui entoure ce disque.

Suivant l'efficacité de la substance sur le germe en question, une surface plus ou moins étendue peut être vue, où les colonies microbiennes ont disparu.

Il peut être choisi avec quasi-certitude le traitement le plus efficace.

➤ **Préparation des disques**

Les disques ont été préparés à partir du papier Wattman N°40 avec un diamètre de 6mm par l'emporte-pièce.

Puis, ces disques ont été stérilisés à 120°C pendant 20 min dans un autoclavage. **Figure08.**



Figure08. Les disques du papier (la photo originale).

➤ **Préparation l'extrait organique**

Les disques stérilisés ont été imbibés dans l'extrait de différentes concentrations entre 06 – 50 mg/ml.

➤ **Protocole expérimentale**

Nous avons coulé aseptiquement sous la haute le milieu de culture gélosé MH dans les boites de pétri de 80 mm de diamètre (20ml) par boite.

Après solidification du milieu de culture, nous avons étalé 1ml de chaque suspension microbienne à la surface du milieu gélosé à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

➤ **Dépôt de disques**

Une fois les géloses MHensemencées, les disques sont imbibés dans l'extrait puis les disposés sur la surface de la gélose MH (6disques/boite) à l'aide d'une pince stérilisée au bec bunsen.

2.3.2. Evaluation de l'activité antifongique (l'extrait utilisé dans cette expérience est Extrait alcalin)

➤ **Préparation de milieux de culture PDA**

La gélose glucosée à l'extrait de pomme de terre est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans denrées alimentaires ainsi que les produits cosmétiques et pharmaceutiques.

Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée : 200g de l'Extrait de pomme de terre, 20g de Glucose., 20g d'Agar.

- Mettre en suspension 200 grammes dans 1 litre d'eau pure. Porter le milieu à ébullition sous agitation constante pendant au moins 1 minute.
- Répartir en tubes ou flacons.
- Autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

La gélose stérile bouillie dans un bain-marie pendant environ 1h du temps pour devenir liquide, puis il sera coulé dans des boîtes de pétrie avec une épaisseur de 4 à 5mm dans une zone stérile par le Bec benzène puis laissées sécher à température ambiante près du bec benzène pour éviter leurs contaminations avec les bactéries de l'air. (A. S. A. Emanfo et al, 2013).

➤ **Protocole expérimentale**

La méthode de contact direct a été appliquée pour tester la sensibilité de champignon *Fusarium culmorum*. Vis à vis l'extrait saponine de Quinoa. La technique consiste à additionner l'extrait à différentes concentrations au milieu de culture encore liquide.

Après solidification du milieu de culture, pour le champignon, un disque mycélien de 6 mm de diamètre est déposé aseptiquement à la surface du milieu gélosé au centre de la boîte de pétri de 8 cm de diamètre.

Le volume du milieu utilisé est de 20ml/boîte de pétri. En parallèle des témoins composés de PDA « Potatoes dextrose agar » sans l'extrait saponine de quinoa servent de contrôle.

L'incubation a été effectuée dans une étuve à la température de 28°C pendant 5 jours.

➤ **Lecture des résultats**

La lecture des résultats ou l'évaluation de la croissance mycélienne a été effectuée à partir du 5^{ème} jour d'incubation à 28°C par la mesure du diamètre de la zone de croissance des thalles. Parallèlement, j'ai déterminé le diamètre des souches fongiques en absence l'extrait saponine de quinoa (Témoin).

➤ **Détermination du P.I.c**

Selon (**Boughendjioua, 2019**) l'effet antifongique est déterminé par la mesure du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne en utilisant la formule suivante :

$$\text{P.I.c (\%)} = (\text{dt} - \text{dT}/\text{dt}) \times 100$$

P.I.c : pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne (%)

dt : la croissance diamétrale du témoin (mm).

dT : la croissance diamétrale du champignon en présence d'une concentration (C) de extrait (cm).

L'activité antifongique d'extrait alcalin étudiées a été évaluée selon le pourcentage de l'inhibition de la croissance diamétrale des talles (%) :

- 30 à 40 % : faible activité,
- 50 à 60 % : activité modérée,
- 60 à 70 % : bonne activité,
- >70 % : excellente activité,

➤ **Détermination de la vitesse de croissance mycélienne (VCM)**

D'après (**Salhi et al, 2015**) la vitesse de la croissance mycélienne de chaque concentration est déterminée par la formule :

$$\text{VCM} = [\text{D1} / \text{T1}] + [(\text{D2} - \text{D1}) / \text{T2}] + [(\text{D3} - \text{D2}) / \text{T3}] + \dots + [(\text{Dn} - \text{Dn-1}) / \text{Tn}]$$

VCM =Vitesse de croissance mycélienne (cm/h).

D = Diamètre de la zone de croissance chaque jour (cm).

T = Temps d'incubation (heur)

2.3.3. l'activité Anti-inflammatoire in-vitro (l'extrait utilisé dans cette expérience est Extrait éthanolique).

Principe de la réaction

L'activité Anti-inflammatoire in-vitro est déterminée par la méthode de **Kandikattu K, (2013)** avec de légères modifications.

Le principe consiste à l'inhibition de dénaturation du BSA provoquée par la chaleur (72°C) par les extraits.

Instrument utilisé

Spectrophotomètre à cuve HELIOS EPSILON (Thermo scientifique)

Réactifs utilisés

- 1- Tampon Tris-Hcl 0.05M pH 6,6
- 2- BSA (bovine serum albumin)
- 3- Diclofénac de sodium (Standard)

Procédure

- Préparation du Tris-HCl 0.05 M PH : 6,6

1,2144g est dissous dans 200 ml de l'eau bi distillée. Le PH est par la suite ajusté à 6,6 avec l'HCl.

- Préparation des extraits :

Différente concentration de l'extrait de plante sont préparée à partir d'une solution mère de 10 000 ppm.

- Préparation du standard :

Différente concentration de Diclofénac sodique (forme injectable) sont préparée dans l'eau distillée à partir d'une solution mère de 500 ppm.

- Préparation des blancs :

a- Pour chaque concentration d'extrait de plante un blanc extrait est préparé dans le quel 01ml d'extrait est ajouté à 1 ml de Tris-Hcl (Ce blanc a pour but de soustraire l'absorbance de l'extrait des résultats obtenus).

b- un blanc BSA contenant 1 ml de la solution de BSA ajouté à 1 ml du solvant utilisé pour les extraits (le résultat obtenu correspond à la dénaturation totale du BSA en absence de substance inhibitrice)

- **Préparation de la solution BSA 0,2%**

0,2 g de BSA est dissoute dans 100 ml de tampon Tris-Hcl

- **Mode opératoire**

1 ml de chaque concentration d'extrait ou du standard + 1 ml de solution de BSA 0.2% préparé dans le Tris Hcl PH : 6,6 incubations à 37 C° pendant 15 min. puis dans un bain marie à 72°C pendant 5 min.

Après refroidissement la turbidité est mesurée à 660 nm dans un spectrophotomètre à cuve.

2.3.4. L'activité Anti- oxydant (l'extrait utilisé dans cette expérience est Extrait éthanolique).

2.3.4.1 Activité biologique : Total Phénolique, TPC (Total Phenolic Content)

Principe de la réaction

La teneur en polyphénols totaux est déterminée en utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton et Rossi, 1965) selon une méthode de dosage sur microplaque décrite par **Muller et al. (2010)**.

Le réactif FCR, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀), est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en mélange d'oxydes de tungstène (W₈O₂₃) et de molybdène (Mo₈O₂₃). La coloration bleue produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux et possède une absorption maximum aux environs de 750 -765 nm.

Instruments utilisés

Un lecteur microplaque

Réactifs utilisés

- 1- Eau distillée, Méthanol
- 2- FCR (Folin-Ciocalteu réactif)
- 3- Na₂CO₃ de 7,5% (Carbonate de sodium)
- 4- Acide Gallique
- 5- Extrait de plante

Mode opératoire :

1- Préparation de Carbonate de sodium (Na₂CO₃) à 7,5% :

7,5 grammes de Na₂CO₃ et sont dissouts dans 100 ml d'eau distillé.

2- Préparation de l'extrait de plante :

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou Méthanol)

3- Préparation de Folin Ciocalteu (FCR) dilué 10 fois

1ml de la solution FCR concentré (2M) est complété à 10ml avec l'eau distillée (9ml).

Procédure

20 µl d'extrait de plante + 100µl de FCR dilué (1 :10) + 75 µl de carbonate de sodium (7,5%) + mettre le mélange à l'obscurité pendant 2h + lecture à 765 nm. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol).

Gamme d'étalonnage

Préparation de la gamme d'étalon de l'acide gallique :

On prend 0,5 mg de l'acide gallique et on le dissolvé dans 5 ml de Méthanol pour obtenir la solution S₁ (0,2mg/ml). Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

- 25µg/ml —————> 25µl de S1+ 175µl de MeOH
- 50 µg /ml —————>50µl de S1+ 150µl de MeOH
- 75µg/ml —————> 75µl de S1+ 125µl de MeOH
- 100µg/ml —————> 100µl de S1+ 100µ de MeOH
- 125µg /ml —————>125µl de S1+ 75µl de MeOH
- 150µg /ml —————> 150µl de S1+ 50µl de MeOH
- 175 µg /ml—————> 175µl de S1+ 25µl de MeOH
- 200µg /ml—————> 200µl de S1

20µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque + 100µl FCR (1 :10) + 75µl de Na₂CO₃ (7,5%) + incubation 2h + lecture à 765nm.

2.3.4.2 Activité biologique : Dosage des Flavonols (Flavonol content)

Principe de la réaction :

La teneur en flavonols des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium (AlCl₃).

Instruments utilisés

Un lecteur microplaque (**Perkin Elmer, Enspire**) est utilisé pour la mesure de l'absorbance

Réactifs utilisés :

- 6- Méthanol
- 7- Eau distillée
- 8- Trichlorure d'aluminium (AlCl₃).
- 9- Acétate de sodium
- 10- Quercetin (Flavonol)
- 11- Extrait de plante

1-Préparation :

a- Trichlorure d'aluminium :

200 milligrammes de AlCl₃ sont dissouts dans 10 ml d'eau distillé.

b-Acétate de sodium :

500 milligrammes d'acétate de sodium sont dissouts dans 10 ml d'eau distillé

c- la gamme d'étalon de la Quercetine :

On prend 1 mg de la Quercetin et on le dissolvé dans 5 ml de méthanol pour obtenir la solution SM : 0,2mg/ml. Les dilutions sont préparées dans des eppendorfs comme la suite :

Quercetin (25) —> 25 µl Sm + 175 µl MeOH

Quercetin (50) —> 50 µl Sm+ 150µl MeOH

Quercetin (75) —> 75 µl Sm + 125µ MeOH

Quercetin (100) —> 100 µl Sm + 100µl MeOH

Quercetin (125) → 125 µl Sm + 75µl MeOH

Quercetin (150) → 150 µl Sm + 50µl MeOH

Quercétine (175) → 175µl Sm + 25µl MeOH

Quercetin (200) → 200µl Sm + 0 MeOH

d- Préparation de l'extrait

Une masse de 1 mg d'extrait est dissoute dans un volume de 1 ml de l'eau distillée (ou Méthanol)

2-Procédure :

A- Pour l'extrait :

50 µl d'extrait de plante + 50 µl de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) + 150 µl d'acétate de sodium + mettre le mélange à l'obscurité pendant deux heures et demi + lecture à 440 nm. Un blanc échantillon est préparé en remplaçant les réactifs par le méthanol (50µl extrait + 200µl méthanol).

B- Pour l'étalon :

50 µl de chaque dilution sont transférés dans une microplaque 96 puits + 50 µl de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) + 150 µl d'acétate de sodium + mettre le mélange à l'obscurité pendant deux heures et demi + lecture à 440 nm.

2.3.4.3. Activité biologie : DPPH radical libre

Principe de la réaction

L'activité anti-radicalaire libre est déterminée par spectrophotométrie par le dosage du DPPH (Blois 1958), le α -tocophérol, BHT et le BHA sont utilisés comme standards antioxydants.

Instruments utilisés :

Un lecteur de microplaque à 96 puits de volume 200 µl pour chaque puits **Réactifs utilisés :**

- 1- Ethanol
- 2- DPPH
- 3- α -tocopherol
- 4- BHA
- 5- BHT

6- Quercetine ou Catéchine

7- Extrait de plante

Mode opératoire :

Préparation de la DPPH :

Dissoudre 4 mg de DPPH dans un volume de 100 ml de méthanol, le radical DPPH est dissous dans le méthanol et gardé à -20°C à l'abri de la lumière. L'absorbance est 0.5 nm (517 nm) dans le spectrophotomètre.

Procédure :

160 μl (DPPH) + 40 μl (extrait) + lecture 517

2.3.4.4. Activité biologique : ABTS scavengingactivity

Principe de la réaction

L'activité ABTS est déterminée par la méthode de Re et al. (1999)

Instrument utilisé

Un spectrophotomètre à cuve de volume 3 ml ou un lecteur à microplaque

Réactifs utilisé :

1- $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$

2- ABTS

3- Eau distillée

4- Ethanol

5- α -Tocophérol, BHA

Procédure :

A partir de l'ABTS et du persulfate de potassium $\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$: les deux produits en solution aqueuse sont mélangés et mis à l'abri de la lumière pendant 12- 16H ; l'absorbance de la solution ainsi obtenue est ajustée par (Ethanol ou H_2O) à 0.700 ± 0.020 à 734 nm avant l'usage.

$(\text{ABTS}^+) \rightarrow 19,2 \text{ mg (7 mM) ABTS} + 5 \text{ ml H}_2\text{O} + 3,3 \text{ mg (2.45 mM) (K}_2\text{S}_2\text{O}_8) + 5 \text{ ml H}_2\text{O} +$
attendre 16 heures à l'abri de la lumière

Procédure :

160 μ l (ABTS⁺) + 40 μ l (extrait) + attendre 10 mn + lecture à 734 nm

3. Analyse statistique

Les tests ont été réalisés en triplicatas et les résultats ont été exprimés sous forme moyenne \pm écart type. Le test analyse de variance (ANOVA) a été fait par le logiciel Excel 2013 Microsoft. Les résultats sont considérés comme significatives lorsque ($p < 0.05$).

Partie 3

Résultats et discussion

1. Les activités biologiques

Les saponines de quinoa sont d'une grande importance pour l'industrie, en raison de leur pouvoir moussant et peuvent être utilisées dans les savons, détergents pour shampoing, les cosmétiques. En raison perspectives pharmaceutiques et biologiques, les chercheurs continuent d'étudier son activité biologique.

1.1. L'activité anti bactérienne

La sensibilité de deux micro-organismes aux saponines de graines de quinoa (saponine sous forme de poudre et l'extrait) concernant l'activité antimicrobienne a été déterminée par la méthode de diffusion en disque. Le tableau 03. Ci-dessus montre le diamètre de la zone d'inhibition (zone claire autour du disque) exercée par l'extrait saponine du Quinoa et la poudre de la saponine sur les micro-organismes testés.

1.1.1. *Escherichia Coli* :

Tableau 03. Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (cm) après 24 h.

<i>Escherichia Coli</i>				
Résultat de saponine poudre (Sp)				
Concentration	C1 (6mg)	C2 (12mg)	C3 (25mg)	C4 (50mg)
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (cm)	1.1	1.3	1.3	1.28
Résultat d'Extrait				
Concentration	C1 (6mg)	C2 (12mg)	C3 (25mg)	C4 (50mg)
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (cm)	1.2	1.22	1.22	1.2

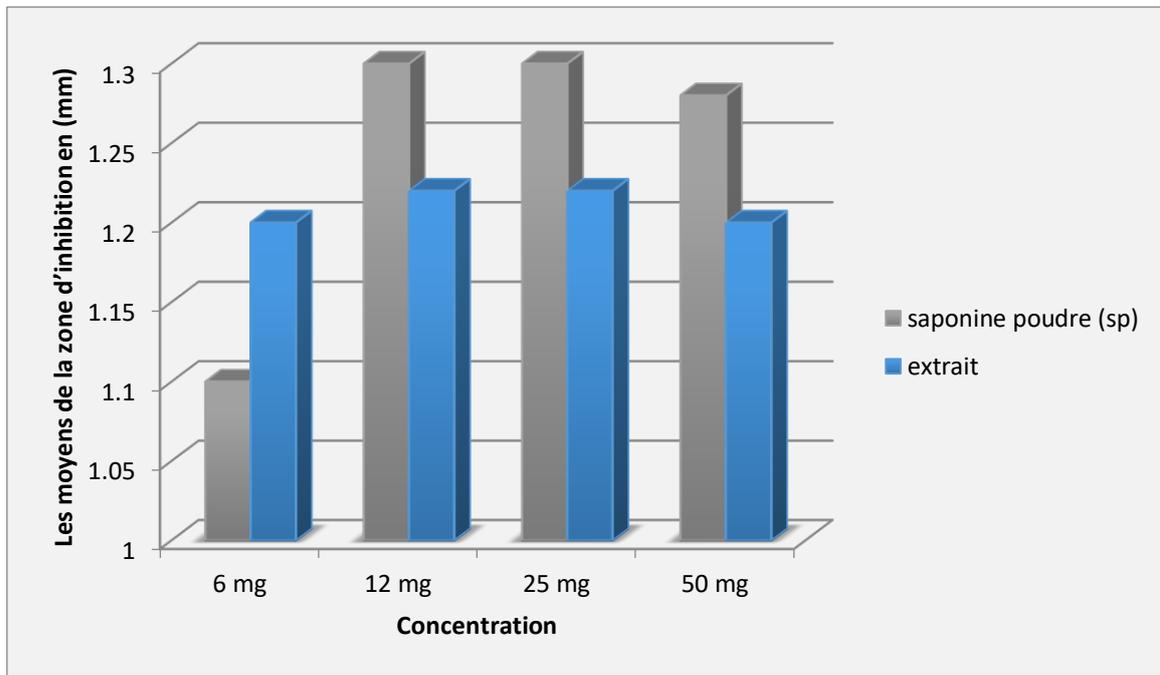


Figure09. La moyenne de la zone d'inhibition sous l'effet de différentes concentrations (extrait et sp : *l'Escherichia Coli*).

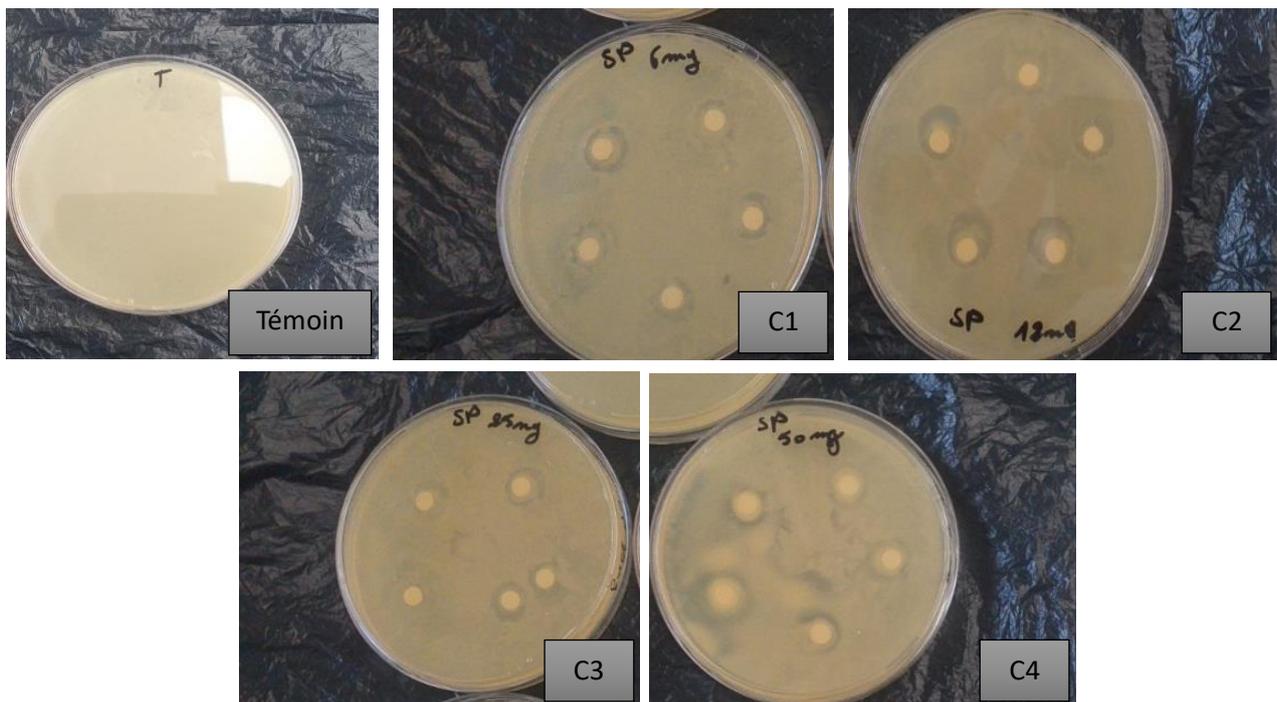


Figure 10. Activité inhibitrice in vitro de saponine poudre sur *l'Escherichia Coli*

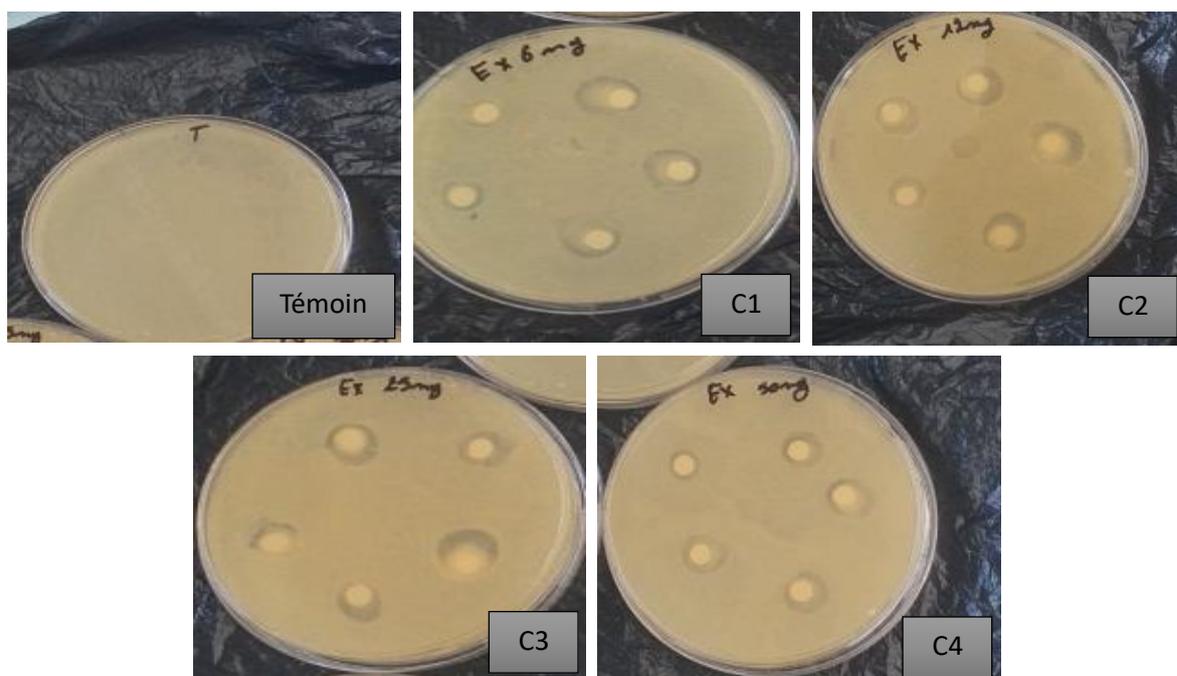


Figure11. Activité inhibitrice in vitro de l'Extrait sur l'*Escherichia Coli*

1.2. *Klebsiella pneumoniae* :

L'effet antibactérien du quinoa sur l'espèce *Klebsiella pneumoniae* par la méthode de diffusion des disques prés-émérgées en DMSO, on a obtenu les résultats dans tableau 4 :

Tableau 04. Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (cm) après 24 h.

<i>Klebsiella pneumoniae</i>		
Résultat du saponine poudre (Sp)		
Concentration	C1 (12mg)	C2 (50mg)
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (cm)	1.35	2.03
Résultat d'Extrait		
Concentration	C1 (12mg)	C2 (50mg)
Diamètres moyens de la zone d'inhibition en (cm)	1.29	1.55

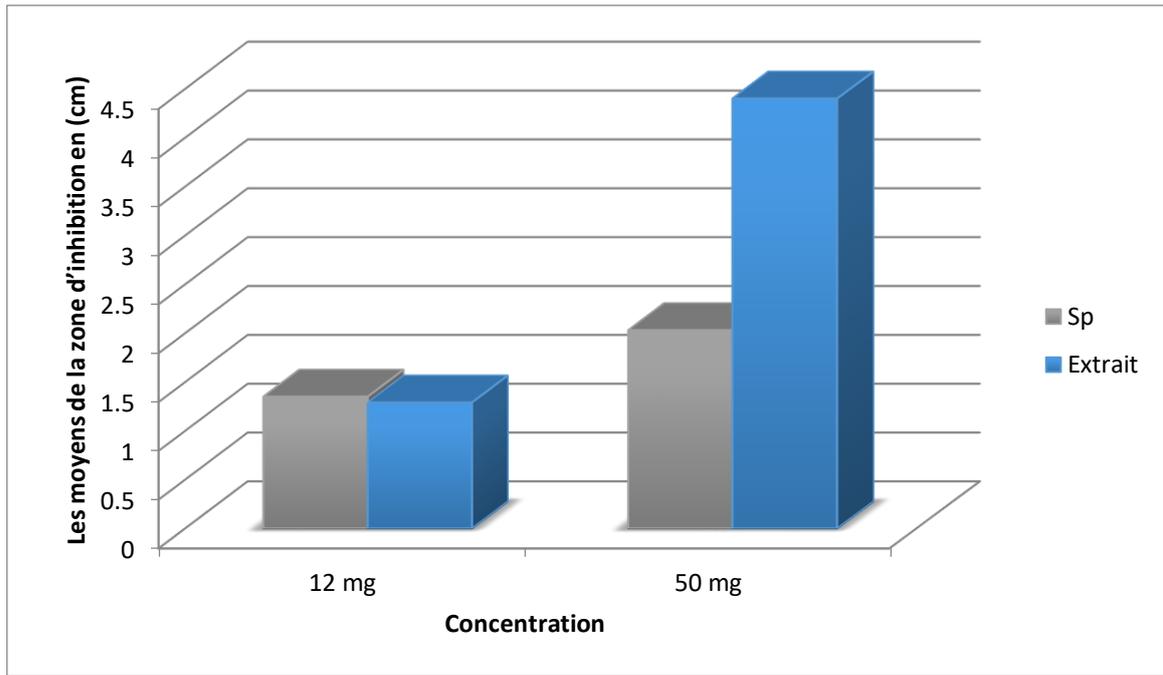


Figure 12. Moyennes de la zone d'inhibition de sous l'effet de différentes concentrations de (l'extrait et sp) *Klebsiella*



Figure13. Activité inhibitrice in vitro de saponine poudre sur *Klebsiella pneumoniae*



Figure14. Activité inhibitrice in vitro de l'Extrait sur *Klebsiella pneumoniae*

Nos résultats montrent que l'effet du saponine de quinoa (poudre et extrait) a une activité antimicrobienne contre *E.Coli* (1.1cm ~ 1.3cm) et *Klebsiella pneumoniae* (1.29cm ~ 2.03cm), ces résultats confirment que le saponine du quinoa a une activité antimicrobienne modérées sur les deux bactérie examinées.

Une activité antimicrobienne a été trouvée, par exemple, dans l'effet des saponines qui ont été séparée/ purifiée par chromatographie sur colonne et identifiées par HPLC/MS et RMN, à partir d'excréments préparés par **Shixia Dong et al., (2020)**. Les bactéries testées étaient : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteritidis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Listeria invanovi*, tous les bactéries pré-mentionnées sont inhibé par les différent extrait de saponine de Quinoa.

Un mélange de saponines entières de quinoa a été rapporté comme étant actif contre les levures (**Woldemichael et Wink., 2001**), et le même résultat ont été confirmés par **Bouzaher Loubna., (2019)** que : « un traitement alcalin a été utilisé parce que les extraits sont actifs contre les bactéries et les levures ».

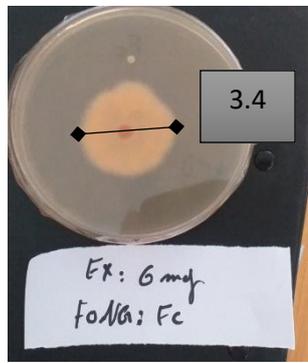
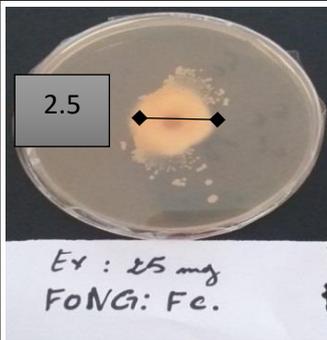
2. L'effet antifongique

Evaluation de la croissance mycélienne :

Considérant que l'activité antifongique est assumée selon la présence ou l'absence de croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* (FC) sur le milieu PDA sous les effets des deux différentes concentrations de l'extrait de saponine de *Chenopodium quinoa Willd.*

Les résultats du test antifongique de saponine de quinoa sur le champignon *Fusarium culmorum* après le 5ème jour a montré une activité inhibitrice, les résultats sont montrés dans le tableau 05.

Tableau 05. Croissance mycélienne de *Fusarium culmorum* le 5eme jour en présence de saponine de Quinoa

Champignon testés	Espèces	Concentration	Résultats de l'activité antifongique	% d'inhibition
<i>Fusarium culmorum</i> (Fc)	<i>Chenopodium quinoa</i> Willd	C1 (6mg)		57.5%
		C2 (25mg)		68.75%

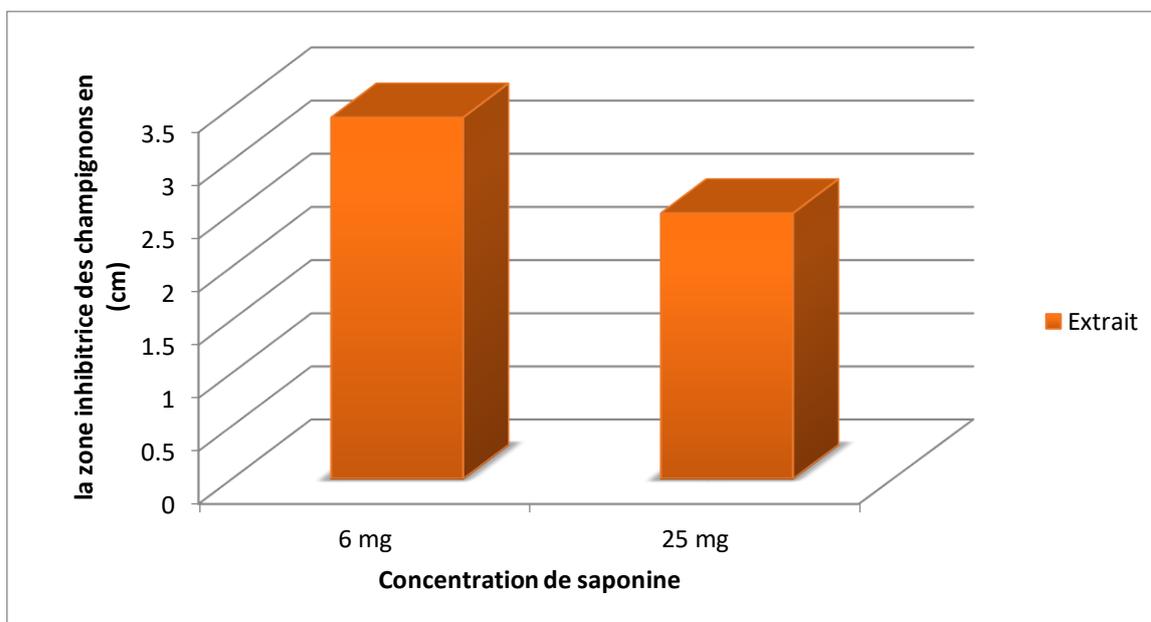


Figure15. La zone d'inhibition sur *Fusarium culmorum* sous l'effet de différentes concentrations de l'extrait en (cm)

L'évaluation de l'activité antifongique de saponine de *Chenopodium quinoa Willd* par la méthode de contact direct, montre une efficacité aux extraits de saponine de quinoa vis-à-vis des champignons phytopatogène *Fusarium culmorum*.

L'extrait de saponine de Quinoa exerce le plus grand pouvoir inhibiteur 68.75% à la concentration 25mg, tandis qu'il exerce une inhibition moins sensible 57.5% à la concentration 6mg, ce qui a été démontré par (Wolde michael et Wink., 2001), que la fraction de saponine totale de *Chenopodium quinoa* présente une activité antifongique contre la croissance de *Candida Albicans*, et que le traitement alcalin a un effet similaire contre *Cinéria*, mais l'effet est légèrement supérieur à celui de l'extrait purifié .

Il a également été rapporté, comme cité par Macarena et Ricardo (2008) ; que les saponines de quinoa ont une activité antifongique contre d'autres champignons et que le quinoa a une activité antifongique contre *Botrytis Cineria* et que cette activité est renforcée par un traitement alcalin. Les saponins de quinoa présentent peu ou pas d'activité antifongique, sauf lorsque le mélange brut des saponines appliqué à *Candida Albicans* est de 50µg/ml (Woldemichael et Wink., 2001), bien que l'activité fongique soit généralement inférieure ou non égale à l'activité des aglycones seuls, la présence de chaînes glucidique en C3 renforce l'effet antifongique des saponines, mais aussi sur la perméabilité membranaire (Stuardo et San Martin. 2008), selon (Woldemichael et Wink. 2001) et l'effet sur la croissance mycélienne est probablement plus prononcé pour les saponines monodesmosides que pour les chaînes glucidiques.

3. L'effet antioxydant

3.1. Les polyphénols

Les polyphénols sont des métabolites végétaux secondaires bioactifs largement présents dans les aliments d'origines végétaux couramment consommés. Il existe trois types de polyphénols sont les flavonoïdes, les acides phénoliques et les tanins, qui agissent comme de puissants antioxydants in vitro.

Tableau 06. Teneur en polyphénols totaux et en flavonoïdes

	Polyphénols totaux (µg EAG/ml) *	Flavonoïdes (µg EQ/ml) **
Extrait	20,18±1,47	17,15±1,03

*La teneur en polyphénols totaux est exprimé en µg équivalent acide gallique /ml (µg GAE/ml)

**La teneur en flavonoïdes est exprimée en μg équivalent quercetine /ml (μg EQ/ml).

Le tableau ci-dessus (tableau 06.) montre que les résultats pour des flavonoïdes totaux (TFC), les polyphénols (TPC) diffèrent significativement ($P < 0.05$), La quantité du TFC est $17.5\mu\text{g}$ EQ/ml. En revanche, la quantité de TPC est significativement plus élevée avec $20.18\mu\text{g}$ EAG/ml.

Nos résultats sont similaires à celle de (Jin P et al, 2017) le flavonoïde TFC= 20.19 mg et les phénol totaux TPC= 16.28mg.

Les composés phénoliques sont principalement présents dans la couche externe du tégument par conséquent, l'élimination des saponines par traitement perlant entraîne généralement la perte des composés phénoliques. Diminutions de 21,5 % et 35,2 % pour les composés phénoliques libres et liés composés dans les graines de quinoa a été observé après un degré de perlage de 30%, qui étaient sensiblement inférieurs à ceux des autres céréales. L'auteur a expliqué que les composés phénoliques contenus dans les graines de quinoa pourraient se répartir plus uniformément dans les graines Zhu ,F (2020).

3.2. Test DPPH

L'activité antioxydant de l'extrait du saponine de grains de quinoa a été évaluée à l'aide de la méthode de réduction du pouvoir antioxydant ferrique et de l'essai de piégeage des radicaux libres DPPH.

Les résultats de l'activité anti radicalaire au DPPH ont été exprimés en pourcentages d'inhibition et en concentration d'inhibition de 50% pour chaque concentration (Tableau 07).

Tableau 07. Activité antiradicalaire contre le DPPH.

Extracts	Pourcentage d'inhibition (%)							
	12,5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	400 μg	800 μg	IC ₅₀ $\mu\text{g}/\text{ml}$
Extrait	-	0,34±0,20	1,19±0,78	3,34±0,29	8,32±0,69	21,86±0,59	40,77±1,37	>800
Standard	3.125 μg	6.25 μg	12.5 μg	25 μg	50 μg	100 μg	200 μg	IC ₅₀ $\mu\text{g}/\text{ml}$
BHT	11,69±1,88	22,21±1,30	37,12±1,80	52,63±2,70	56,02±0,53	83,60±0,23	87,28±0,26	22.32±1.19
BHA	28,95±1,16	54,33±1,59	76,76±1,65	84,09±0,35	87,53±0,82	87,73±0,15	88,43±0,23	5.73±0.41

- ^a Values expressed as means±S.D. of three parallel measurements. ($p < 0.05$).

- ^b Reference compounds.

- nt: not tested, na: not absorbance.

L'extrait a montré une activité antiradicalaire de IC₅₀ >800 très faible par rapport aux valeurs des standards BHA (IC₅₀= 5.73±0.41 µg/ml), BHT (IC₅₀= 22.32±1.19 µg/ml et en comparaison avec les résultats présentés par (Jin P et al,2017), (IC₅₀=0.25±0.1).

3.3. Test ABTS

Les résultats de l'activité anti radicalaire à l'ABTS ont été exprimés en pourcentages d'inhibition et en concentration d'inhibition de 1% pour chaque concentration de l'extrait (tableau 08).

Tableau08. Activité anti-radicalaire contre le radical ABTS

Extracts	Pourcentage d'inhibition (%)							
	12,5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	400 µg	800 µg	IC ₅₀ µg/MI
Extrait	5,81±2,57	11,61±0,74	17,76±0,86	28,25±1,47	47,83±2,21	68,89±0,86	81,46±1,96	246,01±11,17
Standard	3.125 µg	6.25 µg	12.5 µg	25 µg	50 µg	100 µg	200 µg	IC₅₀ µg/MI
BHT	59.22±0.59	78.55±3.43	90.36±0.00	92.18±1.27	93.37±0.86	94.87±0.87	96.68±0.39	1.29±0.30
BHA	83.42±4.09	93.52±0.09	93.58±0.09	93.63±0.16	93.63±0.95	94.20±0.90	95.39±2.62	1.81±0.10

- ^a Values expressed as means±S.D. of three parallel measurements. (*p* < 0.05).

- ^b Reference compounds.

- nt: not tested, na: not absorbance.

L'extrait a montré une activité antiradicalaire de IC₅₀= 246.01± 11.17, faible par rapport aux valeurs des standards BHA (IC₅₀= 1.81±0.10 µg/ml), BHT (IC₅₀= 1.29±0.30 µg/ml), (Jin P et al,2017) .Bien que les expériences DPPH et ABTS soient un test pratique pour déterminer les antioxydants activité, ils ne peuvent donner qu'une idée globale et ne peuvent pas être utilisés comme un outil fiable en raison du manque de conditions in vitro comme le pH et la température, la biodisponibilité, l'absorption et le métabolisme des antioxydants composants **Tang, Y.; Tsao, R. (2017)**

4. L'effet anti-inflammatoire

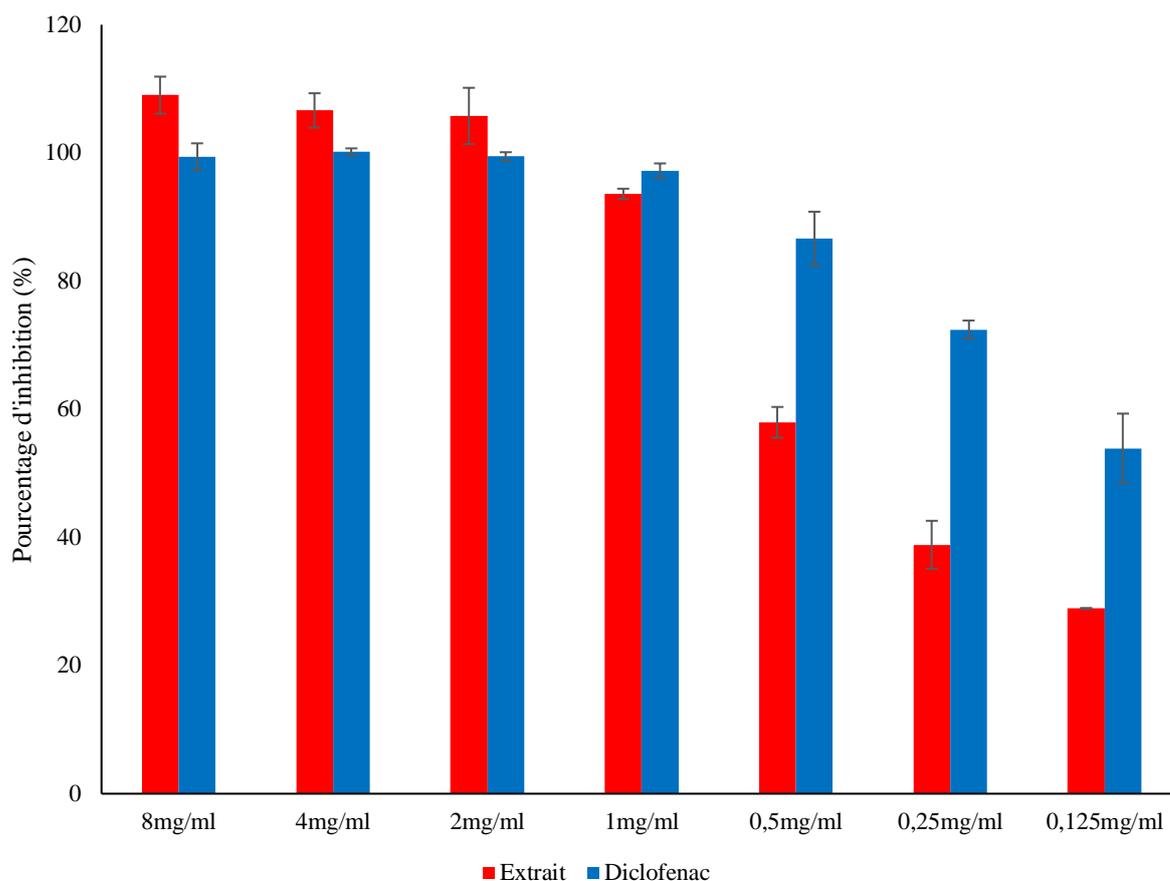


Figure16. L'activité anti-inflammatoire

L'activité anti-inflammatoire *in vitro* a été déterminée par une légère modification de la méthode de **Kandikattu K, (2013)**, dont le principe consiste à l'inhibition de la dénaturation induite par la chaleur (72C°) de la BSA par l'extrait. Notre étude a montré que le taux d'inhibition de l'anti inflammatoire est (~110%) pour la concentration 8mg/ml par apport au standard (Diclofénaac). Il est utile de souligner que la plante utilisée pour cette étude est efficace à réduire l'effet Inflammatoire, Gallego et son équipe (2007) ont rapporté que la richesse des plantes en composés phénoliques et notamment en flavonoïdes, peut moduler le fonctionnement du système immunitaire par inhibition de l'activité des enzymes qui peuvent être responsables des inflammations, ou inhibition de l'expression des médiateurs inflammatoires. D'autres études, ont montré que les flavonoïdes, comme la myricétine et la quercétine possèdent un effet anti-inflammatoire important et cela peut être lié à l'activité antioxydante qui inhibe les médiateurs de l'inflammation suite au blocage de l'action des cyclooxygénase et lipoxygénase (**Mastuda et al., 2002 ; Delporte et al., 2005 ; Yongmoon et al.,2005**).

Conclusion

Conclusion

La présente étude est réalisée au niveau de deux endroits 1- au niveau de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie Université des Frère Mentouri -Constantine 1- , 2-au niveau de laboratoire du centre de biotechnologie (CRBT).

L'objectif de ce travail est de mettre l'accent sur les propriétés biologiques des saponines des grains de *Chenopodium quinoa* Willd, une plante herbacée annuelle récemment introduite en Algérie. Les extractions sont réalisées par deux méthodes : alcoolique (extrait éthanolique) et extrait alcalin, puis le dosage des saponines totales par la méthode acide acétique glacial/acide sulfurique, les différents tests d'activités biologiques de cette étude sont :Activité antimicrobienne, antifongique, antioxydant, anti-inflammatoire.

L'activité antimicrobienne par la technique de dilution en milieu liquide après le traitement alcalin et le saponine poudre ce dernier a montré une activité vis-à-vis aux souches Gram-positives, car le diamètres moyens de la zone d'inhibition dans la concentration(25-50mg) (1.3cm) pour la souches *Escherichia coli* et la zone d'inhibition chez *Klebsiella pneumoniae* (1.55 et 2.03) saponine poudre, extrait respectivement. Les résultats du test antifongique sur le champignon *Fusarium culmorum* après le 5^{ème} jour a montré une bonne activité inhibitrice dans le pourcentage de l'inhibition de la croissance diamétrale des talles est 68.75 %.

Pour l'effet antioxydant les résultats montrent que le taux des flavonoïdes (TFC) et polyphénols totaux (TPC), diffèrent significativement ($P < 0.05$) selon le test anova, la concentration du TFC est 17.5 μ g EQ/ml. En revanche, la quantité de TPC est significativement plus élevée avec 20.18 μ g EAG/ml.

Les résultats de l'activité anti radicalaire DPPH a montré une activité anti radicalaire très faible de $IC_{50} > 800$, Ainsi Les résultats de l'activité anti radicalaire ABTS a montré une activité anti radicalaire faible $IC_{50} = 246.01 \pm 11.17$. Malgré la teneur légèrement élevée en molécules bioactives dans le saponine du Quinoa, notre étude avait clairement démontré que l' extrait éthanolique du saponine est efficaces à réduire l'effet inflammatoire pour une meilleure activité anti-inflammatoire supérieure au diclofénac pour la concentration 8mg /ml car le taux d'inhibition est plus élevés de 110% .

Grace à l'étude que nous avons menée sur les saponines de quinoa, nous avons obtenus l'effet antioxydant lorsqu'il contient des composé phénoliques qui ont un fort pouvoir antioxydant. Ces composés peuvent aider à protéger les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres. Elles contribuent également à l'effet anti-inflammatoire, certains composés présents dans la saponine de grains de quinoa, tel que la quercétine peuvent avoir des effets anti

inflammatoire. Cela peut aider à réduire l'inflammation dans le corps et à prévenir les maladies inflammatoires chroniques externe Acné, Eczéma, Dermatite granulomateuse ,Pyodermatomie du visage

L'étude in vitro a montré que les extrait de saponine de quinoa étaient efficaces contre plusieurs souches de bactéries pathogènes notamment *l'Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*, souche de champignon comme *Fusarium culmorum*, de plus d'autres études ont également montré que ces extraits pouvaient inhiber la croissance de certains champignon et bactéries . Cet effet antimicrobien et anti fongique sont dus à la présence de composés bioactifs dans les saponines tels que les flavonoïdes, et les acides phénolique. Ces composés peuvent aider à perturber la membrane cellulaire des microorganismes, ce qui entraine leur mort ou leur incapacité à se reproduire.

Bien que des études in vitro aient suggéré que les saponine quinoa peut avoir les effet antibactérien, anti inflammatoire, antifongique, antioxydant, des recherches supplémentaires sont nécessaires pour déterminer l'efficacité de cet extrait contre les infections chez l'homme.

*Références
bibliographiques*

A

- **Agarwal S.K., Rastogi R.P. (1974).** Triterpenoid saponins and their genins. *Phytochemistry*, 13(12), 2623-264 agrometeorológica. Salcedo. Pérou. 1er éd. 1989: 23–27. In Reserch article. Phenological.
- **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., Monteil, H. 1992.** Bactériologie clinique, (2ème éd) Ellipses Edition Marketing S.A Paris. Pp: 10-196.

B

- **Basu N., Rastogi R.P. (1967).** Triterpenoid saponins and sapogenins. *Phytochemistry*, 6(9), 1249-127.
- **Bhargava A., Srivastava S., 2013-** Quinoa Botany, production and Uses. Typeset by SPi Pondicherry. India, p:25.
- **Blois M.S., 1958.** Antioxidant determinations by the use of a stable Free Radical. *Nature*, 4617 (181): 1119-1200.
- **Boughendjioua. (2019).** Activité antifongique de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles de *Citrus reticulata*. pp. *Nature & Technology Journal*, Vol. B, Agronomic and Biological Sciences, 20 (2019) : p 54-57.
- **Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C.L.W.T. (1995)** Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *LWT-Food Science and Technology*, 28, 25-30. [http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5).
- **Bruneton J. (2009).** Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales. 4ème éd. Paris, Tec & Doc, 2009.

C

- **C.A. Rice-Evans, N.J. Miller, P.G. Bolwell, P.M. Bramley, J.B. Pridham.1955** Free Radic Res, 22 (1995), pp. 375-383.
- **Carole Ichai, MD, PhD Pas de conflit d'intérêt Paris, décembre 2011** PLAN 1. Principes d'échanges - Principes physicochimiques - Efficacité et optimisation des échanges 2. Techniques 3. Choix techniques et indications ECHANGES EN EER : DIFFUSION.
- **Cavin, A. (1999).** Investigation phytochimique de trois plantes Indonésiennes aux propriétés antioxydante et antiradicalaire : *Tinospora crispa* (Ménispermacées), *Merremia*

emarginata (Convolvulacées) et Oropea enneandra (annonacées). Thèse de Doctorat, Lausanne, 241 P.

- **Chandel R.S., Rastogi R.P. (1980).** Triterpenoid saponins and sapogenins: 1973-1978. *Phytochemistry*, 19(9), 1889-1908.
- **Cuadrado C., Ayet G., Burbano C., Muzquiz M., Camacho L., Cavieres E., et al. (1995).** Occurrence of saponins and sapogenols in Andean crops. *J. Sci. Food Agric.*, 67(2), 169-172.

D

- **De Simone, F. A Dini, c. Pizza, P.S aturmino and O Shettino.1990.** Two flavonol glycosides From *Chenopodium quinoa*. *Phytochemistry*. 29 :3690-3692.
- **Del Castillo C, Mahy G, Winkel T., 2008-** La quinoa en Bolivie: une culture ancestrale devenue culture de rente “ bio-équitable ”. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ. Bolivie* .12(4): 421-435.
- **Denis, F., Marie-cécile ploy, M.C., Martin, C., Bingen, E., Quentin, R. 2007.** *Bactériologie médicale techniques usuelles*, (2ème éd), Elsevier Masson Paris. Pp : 22.24.25.311.
- **Diallo Amadou. (2005).** Etude de la phytochimie et des activités biologiques de *Syzygium guineense* Willd. (Myrtaceae). Diplôme d'état pour le grade de docteur en pharmacie. P.16.

E

- **Elhouiti, F. (2018).** Valorisation des huiles essentielles de *Rhanterium adpressum* Goss. & Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités. Thèse de Doctorat : Biochimie. Ouargla : Université Kasdi Merbah Ouargla, 169p.

F

- **FAO (1994)** Grain Storage Techniques: Evolution and Trends in Developing Countries. Edited by D.L. Proctor, FAO Consultant, FAO Agricultural Services Bulletin No. 109. Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- **FAO, 2011:** Quinoa: An ancient crop to contribute to world food security. Latin America and the Caribbean, pp: 3-14.

- **FAO. 2015.** Catalogue of commercial varieties of quinoa in peru. Instituto Nacional de Innovacion Agraria. ISBN 978-92-5-108765-7. 86p.
- **Farro, P. C. A. (2008).** Desenvolvimento de filmes biodegradáveis a partir de derivados do grão de quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow) da variedade “Real”. *Tese+. Campinas: Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidad Spehar, C. R. (2006). Adaptação da Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) para incrementar a diversidade agrícola e alimentar no Brasil. *Cadernos de Ciência & Tecnologia* 23(1): 41-62.
- **Fauchère, J.L., Avril, J.L. 2002.** Bactériologie générale et médicale. Ellipses Edition Marketing S.A Paris. Pp: 141,239.

G

- **Gallego et al (2007).** Anti-Spasmodic and anti-Nociceptive effects of *Teucrium polium* aqueous extract. *Iranian biomedical journal*.10(3) :145-149.
- **Gee, J. M., Price, K. R., Ridout, C. L., Wortley, G. M., Hurrel, R. F., & Johnson, I. T. (1993).** Saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa*): Effects of processing on their abundance in quinoa products and their biological effects on intestinal mucosal tissue. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 63, 201–209.
- **Ghedira K., Chemli R., Richard B., Zeches M., LeMen-Olivier L. (1991).** Study of the traditional pharmacopeia of Tunisia Plant. Thèse de doctorat.

H

- **Haddouchi F., Zerhouni Kh., Sidi-Yekhelef A. Chaouche Tarik Mohammed. (2016).** Évaluation de l’activité antimicrobienne de différents extraits d'*Helichrysum*
- **Hassan, S. M. ; Haq, A. U. ; Byrd, J. A. ; Berhow, M. A. ; Cartwright, A. L. ; Bailey, C. A., 2010.** Haemolytic and antimicrobial activities of saponin-rich extracts from guar meal. *Food Chem.*, 119: 600–605.
- **Herbillon M., 2015-** Le Quinoa: Intérêt nutritionnel et perspectives pharmaceutiques. these doctorat en pharmacie. Universite de rouen u.f.r de medecine et de pharmacie. France, pp:27-50.

I

- **Igor Ansoff. (2002)** the father of strategic management First published: 06 December 2002 Pages 437-43 .<https://doi.org/10.1002/jsc.614>.
- **Izquierdo F. J.I. et al. 2001.** Cultivos andinos, Version 1.0. [CD-ROM]. Santiago : FAO, <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/pubs.html>.

J

- **Jin Hwa Park 1, Yun Jin Lee 1, Yeon Ho Kim 1, Ki Sun Yoon.2017.**Antioxidant and Antimicrobial Activities of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) Seeds Cultivated in Korea 2017 Sep ;22(3) :195-202.
- **Joly, B., Reynaud, A 2003.** Entérobactéries : systématiques et méthodes d'analyses. Edition Technique et documentation, Paris, Pp : 28, 31.

K

- **Kandikattu K, Bharath Rathna Kumar P, Venu Priya R, Sunil Kumar K, Ranjith Singh.B. Rathore.2013.** EVALUATION OF ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY OF CANTHIUM PARVIFLORUM BY IN-VITRO METHOD. Indian Journal of Research in Pharmacy and Biotechnology 2013; 1(5): 729-730.
- **Kandikattu K et al. (2013).** Evaluation of anti-inflammatory activity of *Canthium parviflorum* by in-vitro method. 1(5):729-730.
- **Kuljanabhadgavad T., Thongphasuk P., Chamulitrat W., Wink M. (2008).** Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. *Phytochemistry*, 69(9), 1919-1926.
- **Kuljanabhadgavad T., Wink M. (2009).** Biological activities and chemistry of saponins from *Chenopodium quinoa* Willd.). *Phytochem. Rev.*, 8(2), 473-490.
- **Kumaran and R. Joel Karunakaran, 2007,** In vitro antioxidant activities of methanol extracts of five *Phyllanthus* species from India, *LWT* 40 : 344–352

L

- **Laus, S.P. (2012).** A internacionalização da educação superior: um estudo de caso da Universidade Federal de Santa Catarina. Tese de Doutorado.

- **Lavigne, J.P., Sotto, A., Merle, C., Jourdan, J., Soussy, C.J., Sirot, D. 2002.** Résistance enzymatique d'*Escherichia coli* aux B-Lactamines et prévalence en clinique. *Pathologie Biologie*, 50 :388-93.
- **Lescano J.L., 1994-** Genética y mejoramiento durcultivos andinos: quinoa, kañihua, tarwi, kiwicha,papa amarga, olluco, mashua y oca Programa Interinstitucional de Waru Waru, convenio INADE/PELT – COTESU,459 p.
- **Loubna Bouzaher,** Contribution à l'étude- in vitro-des activités biologiques des saponines de *Chenopodium quinoa* Willd, Université Mohamed Khider de BISKRA.P 8-9.2019. ALGERIE.

M

- **Macaren S., Ricardo S.N.** Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cineria*. *Ind. Corps Prod.* **2008**, 27, 296-302.
- **Marcelo A., Veloso C.,2016-** Impacts de l'essor international du quinoa.Travail de Bachelor , Haute École de Gestion de Genève (HEGGE),Filière Economie d'Entreprise, Genève,58p.
- **Mastebroek H.D., Limburg H., Gilles T., Marvin H.J.P. (2000).** Occurrence of saponin in leaves and seeds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). *J. Sci. Food Agric.*, 80(1), 152-156.
- **Michael Wink. 2015.** Mode of Action of Harbal Medicines and plant Secondary Metabolite, Institute of Pharmacy and Molecular Biotechnology.
- **Mizui F., Kasai R., Ohtani K., Tanaka O. (1988).** Saponins from the bran of quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd. I. *Chem. Pharm. Bull.*, 36, 1415-1418.
- **Mizui F., Kasai R., Ohtani K., Tanaka O. (1990).** Saponins from the bran of quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd. II. *Chem. Pharm. Bull.*, 38, 375-377.
- **Mujica A., Izquierdo J., Marathe J.P. (2001).** Origen y descripción de la quinua. In : **Mujica A., Jacobsen S. E., Izquierdo J., Marathe J. P. y FAO,** editors. *Quinua (Chenopodium quinoa Willd.): ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro.* CIP, UNAP. FAO, CD Cultivos Andinos, version 1.0. Santiago, Chile.

- **Müller L., Gnoyke S., Popken A.M., V. Böhm V. 2010.** Antioxidant capacity and related parameters of different fruit formulations. *LWT - Food Science and Technology*, 43: 992–999.

P

- **Prego I., Maldonado S., Otegui M., 1998-** Seed structure and localization of reserves in *Chenopodium quinoa*, *Ann. Bot.*, 82(4), 481-488.
- **Price K.R., Johnson I.T., Fenwick G.R. (1987).** The chemistry and biological significance of saponins in foods and feedingstuffs. *CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 26(1), 27-135.

R

- **Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., Rice-Evans, C., 1999.**Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Bio. Med.* 26, 1231–1237.
- **Rice-Evans, C. and Miller, N.J. (1994)** Total Antioxidant Status in Plasma and Body Fluids. *Methods in Enzymology*, 234, 279-293.
- **Roginsky, V. and Lissi, E. (2005)** Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chemistry*, 92, 235-254. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.08.004>.
- **Roginsky, V. and Lissi, E. (2005)** Review of Methods to Determine Chain-Breaking Antioxidant Activity in Food. *Food Chemistry*, 92, 235-254.
- **Ruales J., Nair B.M. (1993).** Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) seeds. *Food Chem.*, 48(2), 131-136.

S

- **Salhi, N., Goumni, Z., Salhi, A., Mehani, M., & Terzi, V. (2015, 12).** Article scientifique. Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huiles essentielles de *Laurus Nobilis* L. sur la croissance mycélienne de *Fusarium Sporotrichoide* , pp. ELWahat pour les Recherches et les Etudes Vol.8 n 2 (2015) : 33-34.
- **San Martín R . (2007).** *Revista Iberoamericana de Filosofía, Política y Humanidades*, vol. 9, núm. 18, 2007, pp. 319-337.

- **Schaechter, M., Medoff, G., Eisenstein. B. 1.1999.** Microbiologie et pathologie infectieuse. De Boeck Supérieur. pp: 187-189.
- **Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2015).** Phenolics and polyphenolics in food, beverages and spices :Antioxidant activity and health ef-fects-A review. *Journal of Functional Foods.* 18, 820-897.
- **Shixia Dong ^{a b 1}, Xiushi Yang ^{c 1}, Lei Zhao ^a, Fengxiang Zhang ^a, Zhao-hua Hou ^d, Peng Xue ^a, 2020.** Antibacterial activity and mechanism of action saponins from *Chenopodium quinoa* Willd. husks against foodborne pathogenic bacteria.
- **Singleton V.L and Rossi J.A.J. 1965.** Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Amer. J. Enol. Viticult.* 16:144-58.
- **Sophie Foucault A., 2014-** Effets d'un extrait de quinoa enrichi en 20- hydroxyecdysone dans un modèle d'obésité nutritionnelle: Application clinique.Thèse Doctorat Médecine humaine et pathologie. AgroParisTech. Français, p: 112.
- **Sparg S.G., Ligth M.E., Van Staden J. (2004).** Biological activities and distribution of plant saponins. *J. Ethnopharmacol.*, 94 (2-3), 219-243.
- **Spehar, C. R., and Santos, R. L. B. (2002).** Quinoa 'BRS Piabiru': alternativa para diversificar os sistemas de produção de grãos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 37(6): 889-893.
- **Stuardo M., San Martin R. 2008.** Antifungal properties of quinoa (*Chenopodium quinoa* Wild) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*. *Industrial corps and products* 27(3) : 296-302.

T

- **Tang Y., Tsao R. 2017.** Phytochemicals in quinoa and amaranth grains and their antioxidant, anti-inflammatory, and potential health beneficial effects: a review. *Molecular Nutrition & Food Research*, 61(7) : 1600767.
- **Tapia M;Alandia S;Cardozo A;Gandarillas H;Mujica A; Ortiz R; Qtazu V; Rea J; Zanabria E.(1979)** in Quinoa y canihua cultivos andinos. Serie Libros Y materiales educativos,pp.

- **Tyler V.E., Brady L.R., Robbers J.E.** 1981. Pharmacognosy. 8ème éd. Philadelphia, Lea and Febiger, **1981**.

V

- **Vega-Galvez, A., Miranda, M., Vergara J., Uribe E., Puente L., Martinez E.A. (2010).** Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: A review. *J. Sci. Food Agric.*, 90(15), 2541-2547.

W

- **Wink M.2004.** Phytochemical diversity of secondary metabolites. In: Goodman R.M., editor. *Encyclopedia of plants & crop science*. New York, Marcel Dekker, 2004, 915-919.
- **Woldemichael GM., Wink M (2001).** Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(5) :2327-2332.

Y

- **Yazar A, İnce Kaya C., 2014-** A New Crop for Salt Affected and Dry Agricultural Areas of Turkey: Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Çukurova University. Adana. Turkey. Vol (2). 1440-1446.
- **Y-Z.Yang,Y. Z.Tang, Y-H.Lui,** Wogonoside displays anti inflammatory effects through modulating inflammatory mediator expression using RAW 264. 7cell, *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 271(2013).

Z

- **Zhu, F.** Dietary fiber polysaccharides of amaranth, buckwheat and quinoa grains: A review of chemical structure, biological functions and food uses. *Carbohydr. Polym.* **2020**, 248, 116819.

Résumé

L'objectif de ce travail est de mettre l'accent sur les propriétés biologiques des saponines des grains de *Chenopodium quinoa* Willd, une plante herbacée annuelle récemment introduite en Algérie. L'étude est réalisée au niveau de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie Université des Frère Mentouri Constantine -1- et le laboratoire du centre de biotechnologie (CRBT). Les extractions sont réalisées par deux méthodes : alcoolique (extrait éthanolique) et extrait alcalin, puis le dosage des saponines totales par la méthode acide acétique glacial/acide sulfurique, les différents tests d'activités biologiques de cette étude sont : Activité antimicrobienne, antifongique, antioxydant, anti-inflammatoire.

L'activité antimicrobienne a montré une activité vis-à-vis aux souches Gram-positives, pour la souches *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats du test antifongique sur le champignon *Fusarium culmorum* après le 5^{ème} jour a montré une bonne activité inhibitrice . Concernant l'effet antioxydant , les résultats montrent que le taux des flavonoïdes (TFC) et polyphénols totaux (TPC) est significative. Pour l'activité anti radicalaire DPPH a montré une activité antiradicalaire très faible, idem pour l'activité anti radicalaire ABTS .

Malgré la teneur légèrement élevée en molécules bioactives dans le saponine du Quinoa, notre étude a clairement démontré que l'extrait éthanolique du saponine est efficaces à réduire l'effet inflammatoire pour une meilleure activité anti-inflammatoire supérieure au diclofénac car le taux d'inhibition est très important.

Mots-clés : Saponine, Extrait éthanolique, Extrait alcalin, Activité biologique, Antioxydante, antiinflammatoire.

Abstract

The objective of this work is to emphasize the biological properties of the saponins of the grains of *Chenopodium quinoa* Willd, an annual herbaceous plant recently introduced in Algeria. The study is carried out at the laboratory level of the Faculty of Nature and Life Sciences University of Brother Mentouri Constantine -1- and the laboratory of the biotechnology center (CRBT). The extractions are carried out by two methods: alcoholic (ethanolic extract) and alkaline extract, then the determination of total saponins by the glacial acetic acid/sulfuric acid method, the various biological activity tests of this study are: Antimicrobial, antifungal, antioxidant, anti-inflammatory activity.

Antimicrobial activity showed activity against Gram-positive strains, for *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. The results of the antifungal test on the fungus *Fusarium culmorum* after the 5th day showed good inhibitory activity. Regarding the antioxidant effect, the results show that the rate of flavonoids (TFC) and total polyphenols (TPC) is significant. For the anti-radical activity DPPH showed a very weak anti-radical activity, the same for the anti-radical activity ABTS.

Despite the slightly high content of bioactive molecules in quinoa saponin, our study clearly demonstrated that the ethanolic extract of saponin is effective in reducing the inflammatory effect for better anti-inflammatory activity than diclofenac because the rate of inhibition is very important.

Keywords: Saponin, Ethanolic extract, Alkaline extract, Biological activity, Antioxidant, anti-inflammatory.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو التأكيد على الخصائص البيولوجية للصابونين لحبوب *Chenopodium quinoa* Willd، وهو نبات عشبي سنوي تم إدخاله مؤخرًا في الجزائر. تتم الدراسة على المستوى المخبري بكلية علوم الطبيعة والحياة جامعة الأخ منتوري قسنطينة 1- ومعمل مركز التقانة الحيوية (CRBT) ويتم الاستخراج بطريقتين: الكحولية (المستخلص الايثانولي) والمستخلص القلوي، ثم تحديد مجموع الصابونين بواسطة طريقة حامض الخليك الجليدي / حامض الكبريتيك، اختبارات النشاط البيولوجي المختلفة لهذه الدراسة هي: نشاط مضاد للميكروبات، مضاد للفطريات، مضاد للأكسدة، مضاد للالتهابات.

أظهر النشاط المضاد للميكروبات فاعلية ضد السلالات موجبة الجرام لسلالات *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae*. أظهرت نتائج اختبار مضاد الفطريات على فطر *Fusarium culmorum* بعد اليوم الخامس نشاطاً مثبطاً جيداً. فيما يتعلق بتأثير مضادات الأكسدة، أظهرت النتائج أن معدل مركبات الفلافونويد (TFC) والبوليفينول الكلي (TPC) كبير. بالنسبة للنشاط المضاد للجنور، أظهر DPPH نشاطاً مضاداً للراديكالية ضعيفاً جداً، وهو نفس الشيء بالنسبة للنشاط المضاد للراديكالية ABTS.

على الرغم من المحتوى المرتفع قليلاً للجزيئات النشطة بيولوجياً في الكينوا صابونين، فقد أظهرت دراستنا بوضوح أن المستخلص الإيثانولي للصابونين فعال في تقليل التأثير الالتهابي للحصول على نشاط مضاد للالتهابات أفضل من ديكلوفيناك لأن معدل التنشيط مهم جداً.

الكلمات المفتاحية: صابونين، مستخلص إيثانولي، مستخلص قلوي، نشاط بيولوجي، مضاد للأكسدة، مضاد للالتهابات.

BMC

BUSINESS MODEL CANVAS

<p>PARTENAIRES Agriculteur Incubateur Fournisseur de matières premières Dermatologues</p>	<p>ACTIVITÉS CLÉS Fabrication de savon Distillation d'huile Fabrication de glycérine et de conservateurs</p> <hr/> <p>RESSOURCES CLÉS Financement NADE Incubateur Matières premières Machines Ligne de production de savon</p>	<p>PROPOSITION DE VALEUR Produit 100% naturel Création d'emploi Réduire la facture d'importation Efficace Economique Sans danger pour les zones sensibles et les bébés</p>	<p>RELATION CLIENTS Accompagnement après-vente Service de livraison Présentation du produit</p> <hr/> <p>DISTRIBUTION Les réseaux sociaux\ Medecin Dermatologues pharmacies Parapharmacies Les panneaux publicitaires Les expositions nationales</p>	<p>SEGMENTS DE MARCHÉ Public Centres de santé Les patients Les écoles Pharmacies Parapharmacie</p>
<p>STRUCTURE DE COÛTS Locale, Ligne de production de savon, La matières premières , véhicule de livraison</p>		<p>SOURCES DE REVENU ET MODÈLE DE PRICING Revenus de la vente de savon Revenus de la glycérine et les conservateurs, extraction des huiles et distillation des parfums. Les revenus des formations et les publicités Vendre les recettes</p>		

Année universitaire : 2022-2023

Présenté par : DRIDI Kaouther
MIROUD Houssna

Fabrication du savon à base des saponines de Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd).

En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique Et de l'obtention du diplôme Startup-Brevet dans le cadre de l'arrêté ministériel 1275
Spécialité : Biologie et physiologie de reproduction végétale

Résumé

L'objectif de ce travail est de mettre l'accent sur les propriétés biologiques des saponines des grains de *Chenopodium quinoa* Willd, une plante herbacée annuelle récemment introduite en Algérie. L'étude est réalisée au niveau de laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie Université des Frères Mentouri Constantine -1- et le laboratoire du centre de biotechnologie (CRBT). Les extractions sont réalisées par deux méthodes : alcoolique (extrait éthanolique) et extrait alcalin, puis le dosage des saponines totales par la méthode acide acétique glaciale/acide sulfurique, les différents tests d'activités biologiques de cette étude sont : Activité antimicrobienne, antifongique, antioxydant, anti-inflammatoire.

L'activité antimicrobienne a montré une activité vis-à-vis aux souches Gram-positives, pour la souches *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Les résultats du test antifongique sur le champignon *Fusarium culmorum* après le 5ème jour a montré une bonne activité inhibitrice. Concernant l'effet antioxydant, les résultats montrent que le taux des flavonoïdes (TFC) et polyphénols totaux (TPC) est significative. Pour l'activité anti radicalaire DPPH a montré une activité antiradicalaire très faible, idem pour l'activité anti radicalaire ABTS.

Malgré la teneur légèrement élevée en molécules bioactives dans le saponine du Quinoa, notre étude a clairement démontré que l'extrait éthanolique du saponine est efficace à réduire l'effet inflammatoire pour une meilleure activité anti-inflammatoire supérieure au diclofénac car le taux d'inhibition est très important.

Mots-clés : Saponine, Extrait éthanolique, Extrait alcalin, Activité biologique, Antioxydant, antiinflammatoire.

Laboratoires de recherche :

- 1- Laboratoire de la faculté des sciences de la nature et de la vie Université des Frères Mentouri Constantine 1
- 2- Laboratoire du Centre de Recherche Biotechnologie (CRBT).

Encadrante : BOUCHAREB Radia (MCA - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Présidente : BOUSBA Ratiba (Pr - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur: ZEGHBID Nassim Lotfi (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).