

## (12) BREVET D'INVENTION

(11) N° de publication : **MA 47840 A1** (51) Cl. internationale : **G01N 21/80; G01N 21/00**

(43) Date de publication :  
**29.07.2021**

---

(21) N° Dépôt :  
**47840**

(22) Date de Dépôt :  
**31.12.2019**

(71) Demandeur(s) :  
**Université Ibn Tofail, Campus Universitaire B.P 242, Kénitra, 14000 (MA)**

(72) Inventeur(s) :  
**REHIOUI MALAK ; HAJJAJI NAJAT ; BENZIDIA BOUCHRA ; ELMEHNASSI ASMAE**

(74) Mandataire :  
**IGOUZAL MOHAMMED**

---

(54) Titre : **Nouvel indicateur coloré naturel extrait à partir d'Opuntia Dillenii**

(57) Abrégé : La présente invention concerne l'utilisation des bétacyanines, qui sont des colorants extraits à partir du fruit de cactus *Opuntia Dillenii*, en tant qu'indicateur coloré naturel. Le procédé d'extraction du colorant consiste d'abord : à peler les fruits puis à séparer la pulpe des graines, macérer la pulpe dans un solvant, filtrer et centrifuger le produit et enfin évaporer le solvant et lyophiliser pour obtenir un colorant sous forme d'une poudre stable. L'indicateur coloré utilisé pour indiquer le pH à travers le changement de couleur de la solution. A pH acide à peu basique, la solution est de couleur rose. À partir de pH = 9 la solution devient violette et au delà de pH = 12 la solution vire au jaune. L'application de cet indicateur coloré dans les dosages acido-basiques montre le changement de couleur lors de l'équivalence. Ces résultats ont été comparés à un indicateur coloré standard. Les avantages de cet indicateur par rapport aux autres est qu'il est non toxique et conforme aux exigences de protection de l'environnement. En plus, la méthode d'extraction est facile et peu coûteuse.

## Nouvel indicateur coloré naturel extrait à partir d'*Opuntia Dillenii*

### Abrégé

La présente invention concerne l'utilisation des bétacyanines, qui sont des colorants extraits à partir du fruit de cactus *Opuntia Dillenii*, en tant qu'indicateur coloré naturel.

Le procédé d'extraction du colorant consiste d'abord : à peler les fruits puis à séparer la pulpe des graines, macérer la pulpe dans un solvant, filtrer et centrifuger le produit et enfin évaporer le solvant et lyophiliser pour obtenir un colorant sous forme d'une poudre stable.

L'indicateur coloré utilisé pour indiquer le pH à travers le changement de couleur de la solution. A pH acide à peu basique, la solution est de couleur rose. À partir de pH = 9 la solution devient violette et au delà de pH = 12 la solution vire au jaune.

L'application de cet indicateur coloré dans les dosages acido-basiques montre le changement de couleur lors de l'équivalence. Ces résultats ont été comparés à un indicateur coloré standard.

Les avantages de cet indicateur par rapport aux autres est qu'il est non toxique et conforme aux exigences de protection de l'environnement. En plus, la méthode d'extraction est facile et peu coûteuse.

**Mots clés :** Indicateur coloré naturel, *Opuntia Dillenii*, Bétacyanines, Titration acido-basique.

## **DESCRIPTION**

### **Domaine technique**

La présente invention concerne le domaine des indicateurs colorés de pH, et spécialement les indicateurs colorés naturels utilisés dans les dosages acido-basiques.

### **Etat antérieur**

Dans les expériences de dosages acido-basiques connues, on utilise souvent les indicateurs colorés synthétiques. Cependant, certaines contraintes, telles que la pollution de l'environnement, la toxicité, la disponibilité et les coûts plus élevés des produits utilisés, conduisent à la recherche de composés naturels qui peuvent être adoptés comme des indicateurs colorés.

En revanche, il existe de nombreux indicateurs colorés naturels à base de plantes. Le brevet PH22018001206U1 le plus récent, concerne un indicateur coloré naturel à base de l'extrait des feuilles de la plante *Tradescantia spathacea*.

Le brevet CN108051541A, décrit un indicateur coloré naturel à base des pigments extraits à partir de pétales de la gloire du matin. Le procédé utilisé consiste en un lessivage des pétales dans l'éthanol.

Le brevet PH22017000565U1 concerne un procédé de production d'un indicateur coloré à partir de feuilles de Pandan (*Pandanus amaryllifolius*) et de fleurs de Guamamela (*Hibiscus rosaseninsis*).

Le brevet PH22017000398U1 concerne un procédé d'extraction de jus de pétales de *Clitoria ternatea* et son utilisation en tant qu'indicateur naturel.

Le brevet CN105784702A concerne un indicateur coloré composé d'une solution contenant un mélange de l'alkannine et de la curcumine.

Le brevet CN104880461A concerne un indicateur coloré basé sur le pigment extrait des feuilles de prunier pourpre. Cet indicateur change de couleur du rouge au vert jaune dans la plage de pH de 5,5 à 6,5.

Les brevets CN103865517A et CN103411969A décrivent des procédés de préparation des indicateurs de pH à partir de pétales des fleurs *Viola tricolor L.* Le brevet CN103865517A utilise les pétales violets, magenta et jaune dans un rapport de masse 7: 2: 1, alors que le brevet CN103411969A utilise uniquement les pétales violets.

Par ailleurs, le brevet CN103149322A concerne un indicateur coloré à base de poudre extraite de fleurs de *Platycodon Grandiflorum*.

Le brevet CN101788496A concerne un procédé d'utilisation d'un pigment de pétale de *Petunia* en tant qu'indicateur coloré, consistant à l'extraction d'une solution de pigments à partir des pétales violets de *Petunia*.

Le brevet CN101672798A concerne la préparation d'un indicateur coloré à base de pigment des plantes selon un procédé facile qui peut être appliqué aux travaux pratiques. Ce procédé consiste à extraire les pigments des fleurs, des feuilles, des racines ou des tiges par alcool pour obtenir l'indicateur de pH de pigment de plante, qui est ensuite mélangé à des solutions d'acidité-alcalinité différentes pour produire le changement de couleur correspondant de manière à détecter l'acidité-alcalinité de la solution.

Le brevet CN101162219A concerne un indicateur coloré à base de pigment de la plante *Mangrove Kenaelia Candel*.

Enfin, le brevet CN1796986A concerne un indicateur coloré à partir de chou rouge. Ce dernier contient des colorants (les anthocyanes) qui ont la propriété de changer de couleur en fonction du pH.

### **Exposé de l'invention**

Le but de la présente invention est d'utiliser des bétacyanines, des colorants extraits d'*Opuntia Dillenii*, en tant qu'indicateur coloré dans les dosages acido-basiques pour remplacer les indicateurs colorés synthétiques telle que la phénolphtaléine.

*Opuntia Dillenii*, aussi appelé figuier de Barbarie, est une espèce de cactus, caractérisée par la présence des fruits piriformes qui mesurent 4 à 6 centimètres de longueur 2,5 à 4 de largeur et contiennent de 60 à 180 graines par fruit. Les fruits matures sont de couleur rose violacé, ainsi que la pulpe de fruit.

Le Maroc est considéré comme un pays riche en ce fruit « *Opuntia Dillenii* » qui est cultivé surtout aux alentours de la ville d'Essaouira. L'importance de cette étude réside dans le fait qu'elle constituera une étape indispensable dans la valorisation de substances naturelles trouvées au Maroc.

Le fruit d'*Opuntia Dillenii* est caractérisé par la présence de pigments de bétacyanines qui sont responsables de la couleur rose violacé, appartenant à la famille des bétalaïnes. Ce sont des hétérosides, une partie de la molécule chromophore est attachée à un ose.

Les bétacyanines possèdent la caractéristique de changer de couleur en fonction de pH de la solution dans laquelle ils sont introduits. Ceci permet son utilisation en tant qu'indicateur de pH dans les dosages acido-basiques.

Les bétacyanines sont extraits de la pulpe de fruit selon le procédé d'extraction suivant :

- On prend 100 g de pulpe de ce fruit, on lui ajoute 200 mL de solvant. Le solvant choisi est l'éthanol-eau (50%-50%). Ce choix est dicté par le fait que d'une part les bétacyanines ne sont solubles que dans l'eau donc l'extraction ne peut se faire qu'avec un solvant qui contient de l'eau, et d'autre part l'éthanol permet de récupérer les colorants de la pulpe sans co-extraire les polysaccharides et autres solides insolubles dans l'alcool, ceci simplifie la purification ultérieure des extraits colorés.
- On laisse macérer pendant 24 h à l'obscurité à température ambiante.
- L'échantillon est centrifugé à 5000 tr/min à 15 ° C pendant 10 min et le surnageant est filtré.
- Le solvant est évaporé par un évaporateur rotatif. Les extraits obtenus sont lyophilisés pendant 48 h, l'extrait broyé donne une poudre stable.

Les avantages de ce procédé est qu'il est peu coûteux, et il permet l'obtention d'une poudre stable qui est utilisé comme indicateur coloré pour des pH basiques.

Les bétacyanines sont des colorants hydrosolubles. Ils sont utilisés comme indicateur coloré naturel car ils présentent diverses couleurs à différents pH (tableau 1).

Le changement de couleur des bétacyanines est dû à la modification de la structure chimique de la molécule lors du passage de la forme acide à la forme basique.

Cet indicateur coloré permet d'abord de donner une première indication de pH pour une solution à pH inconnue et ensuite d'indiquer le point d'équivalence lors de dosages acido-basiques.

Cet indicateur coloré est valable aux dosages qui ont le pH à l'équivalence appartenant à sa zone de virage i.e. le pH à l'équivalence de dosage entre 9 et 12.

### **Analyse par spectrophotomètre**

L'influence du pH sur les bétacyanines est analysée par spectroscopie UV/Visible. Un gramme d'extrait de colorant de bétacyanines est dissout dans 10 mL d'eau distillé. On prend

1 mL de cette solution et on lui ajoute des solutions tampons couvrant la plage de pH comprise entre 0,5 et 13. Les mesures de pH sont effectuées à l'aide d'un pH-mètre.

Les solutions sont caractérisées par spectroscopie UV / Visible entre 300 et 700 nm, pour déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale. Voir figure 2.

Lorsque le  $\text{pH} < 9$ , le colorant a un pic principal d'environ 540 nm. Quand le pH est entre 9 et 12, le colorant a un pic principal d'environ 550 nm. Au delà de  $\text{pH} = 12$ , le colorant a un pic principal d'environ 410 nm.

### **Étude des effets de la température et de la lumière sur la stabilité des bétacyanines**

Les effets de la température et de la lumière sur la stabilité des bétacyanines sont obtenues à différentes températures allant de  $0^\circ\text{C}$  à jusqu'à  $120^\circ\text{C}$  avec lumière et sans lumière. L'étude est caractérisée par spectroscopie UV-visible (figure 3).

L'effet de la lumière est sans conséquences sur les résultats. Par contre, l'augmentation de la température entraîne une réduction progressive de la couleur rose à éventuellement l'apparition d'une couleur brun clair.

A partir de  $60^\circ\text{C}$  on constate une diminution nette de l'absorbance des bétacyanines. Ce qui montre que cet indicateur coloré ne peut pas être utilisé dans des réactions à des températures supérieurs à  $60^\circ\text{C}$ .

### **Exemple d'application 1 : Dosage d'acide acétique par l'hydroxyde de sodium**

On prélève 20 mL d'une solution de  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (0,1 M), on ajoute quelques gouttes de notre indicateur coloré qui est préparé comme suit : 1 g de Bétacyanines dissout dans 10 mL d'eau distillée. On dose par une solution de  $\text{NaOH}$  (0,1M).

On compare les résultats obtenus avec les résultats de dosage en utilisant la phénolphthaléine.

Toutes les expériences ont été réalisées trois fois.

Pendant le dosage, après l'ajout de  $\text{NaOH}$  (0,1M) sur  $\text{CH}_3\text{COOH}$  (0,1M), on observe un changement de couleur du rose au violet (tableau 2).

L'étude a révélé que l'indicateur coloré à base des bétacyanines, extrait de fruit de cactus *Opuntia Dillenii* a changé de couleur de rose à violet au point d'équivalence de dosage de l'acide acétique par la soude. Le changement de couleur est facile à observer.

Nous avons obtenu les mêmes résultats dans les deux dosages en utilisant soit cet indicateur coloré à base des bétacyanines, soit en utilisant la phénolphthaléine comme indicateur coloré.

La concentration d'acide acétique  $\text{CH}_3\text{COOH}$  est calculée dans les deux dosages. Elle est équivalente à 0,1 M. L'incertitude sur la concentration d'acide acétique des deux dosages est de 0,0003 qui est une valeur très faible et insignifiante.

D'autre part, l'indicateur coloré à base de colorant naturel extrait de fruit de cactus *Opuntia Dillenii* ne présente aucun danger pour la pollution environnementale et pour la sécurité des utilisateurs.

### Liste des tableaux

**Tableau 1 : Variation de couleur de Bétacyanines à différentes valeurs de pH.**

| pH         | $\text{pH} \leq 1$ | $1 < \text{pH} < 9$ | $9 < \text{pH} < 12$ | $12 < \text{pH}$ |
|------------|--------------------|---------------------|----------------------|------------------|
| Conditions | Très acide         | Acide à peu basique | basique              | Très basiques    |
| Couleur    | Rose magenta       | Rose indien         | Violet               | Jaune            |

**Tableau 2 : Résultats de dosage d'acide acétique par l'hydroxyde de sodium.**

|  | Indicateur coloré à base des Bétacyanines | Phénolphtaléine     |
|--|---|---------------------|
| Volume d'équilibre de NaOH (mL)                        | $20,1 \pm 0,05$                           | $20,05 \pm 0,05$    |
| Changement de couleur                                  | rose à Violet                             | Incolore à rose     |
| pH à l'équilibre                                       | 9,01                                      | 8,93                |
| Concentration de $\text{CH}_3\text{COOH}$ calculée (M) | $0,1005 \pm 0,0003$                       | $0,1002 \pm 0,0003$ |



### Revendications

- 1- Nouvelle utilisation de bétacyanines extrait à partir de fruit de cactus « *Opuntia Dillenii* » en tant qu'indicateur coloré naturel et non toxique.
- 2- Nouvelle utilisation de bétacyanines en tant qu'indicateur coloré selon la revendication 1, caractérisée par le fait que dans le cas des dosages acido-basiques on a des changements de couleurs comme suit :
  - A  $\text{pH} < 9$ , la solution est de couleur rose ;
  - A partir du  $\text{pH} = 9$ , la solution devient violette ;
  - Au-delà du  $\text{pH} = 12$ , la solution vire au jaune.

## Liste des figures

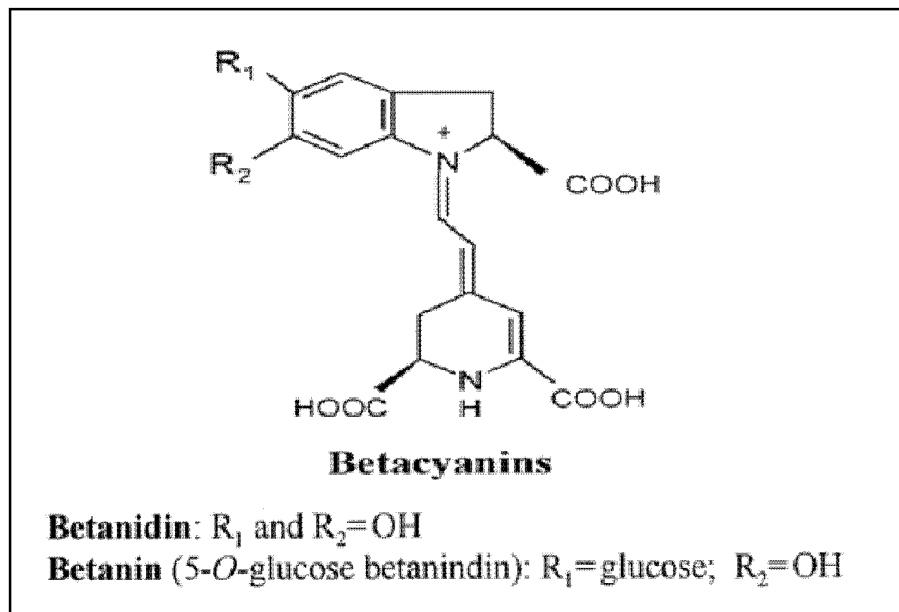


Figure 1 : Structure chimique de Bétacyanines.

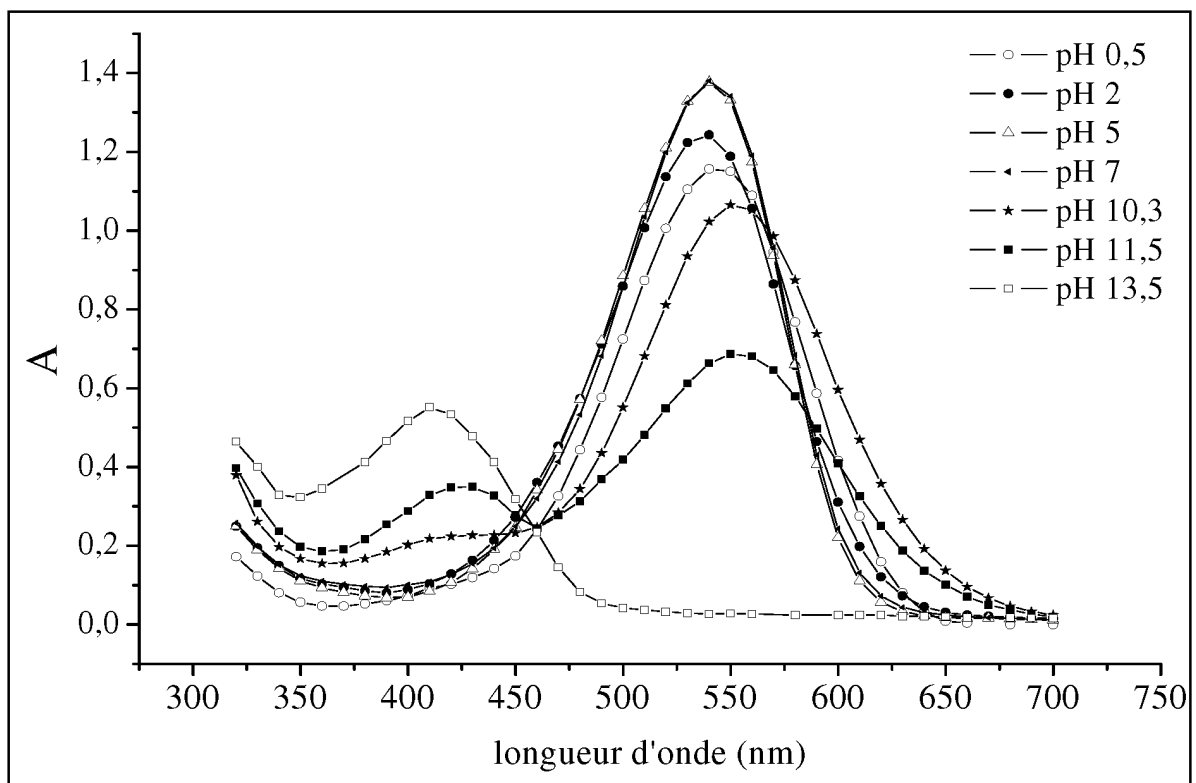
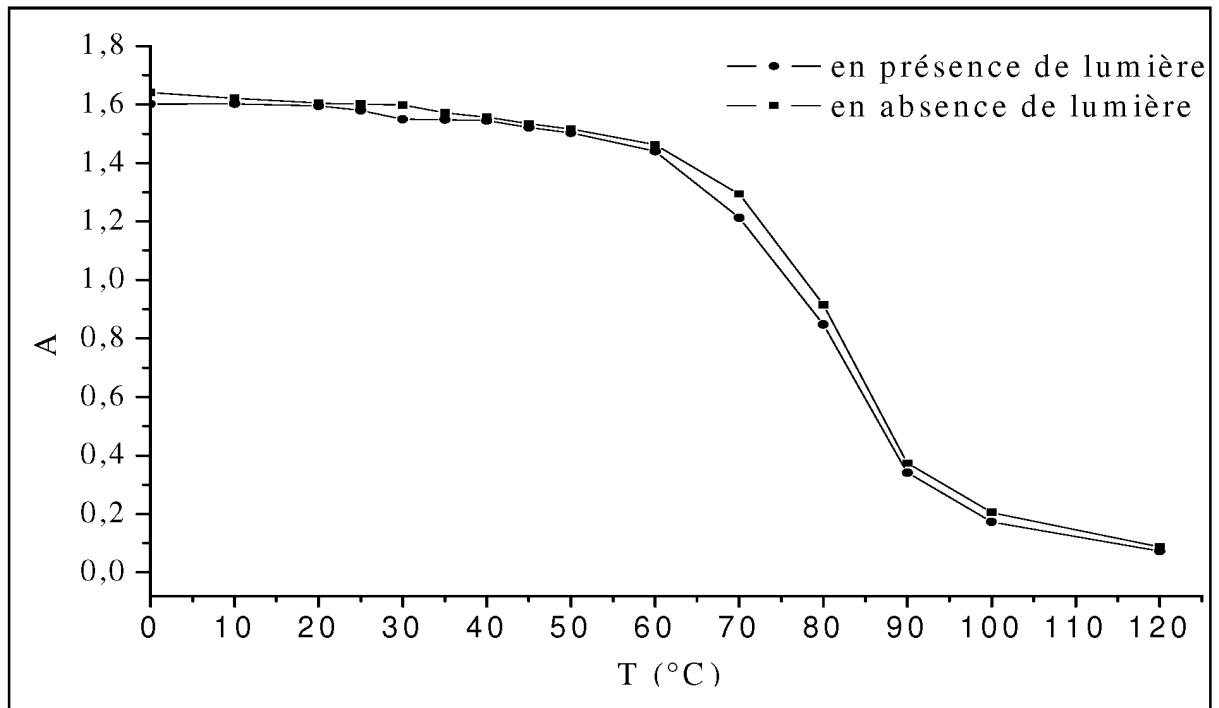


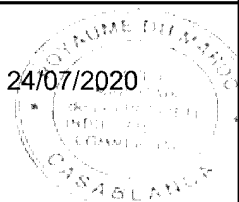
Figure 2 : Spectres d'absorbance de Bétacyanines à différents niveaux de pH.



**Figure 3 : Stabilité à différentes températures en présence de lumière et en absence de lumière.**

**RAPPORT DE RECHERCHE  
AVEC OPINION SUR LA BREVETABILITE**  
(Conformément aux articles 43 et 43.2 de la loi 17-97 relative à la protection  
de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13)

|   |  |
|---|--|
| <b>Renseignements relatifs à la demande</b>   |  |
| N° de la demande : 47840  | Date de dépôt : 31/12/2019                   |
| Déposant : Université Ibn Tofail  |  |
| Intitulé de l'invention : Nouvel indicateur coloré naturel extrait à partir d'Opuntia Dillenii  |  |
| Le présent document est le rapport de recherche avec opinion sur la brevetabilité établi par l'OMPIC conformément aux articles 43 et 43.2, et notifié au déposant conformément à l'article 43.1 de la loi 17-97 relative à la protection de la propriété industrielle telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.   |  |
| Les documents brevets cités dans le rapport de recherche sont téléchargeables à partir du site <a href="http://worldwide.espacenet.com">http://worldwide.espacenet.com</a> , et les documents non brevets sont joints au présent document, s'il y en a lieu.  |  |
| Le présent rapport contient des indications relatives aux éléments suivants :   |  |
| Partie 1 : Considérations générales   |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> Cadre 1 : Base du présent rapport<br><input type="checkbox"/> Cadre 2 : Priorité<br><input type="checkbox"/> Cadre 3 : Titre et/ou Abrégé tel qu'ils sont définitivement arrêtés  |  |
| Partie 2 : Rapport de recherche   |  |
| Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité   |  |
| <input type="checkbox"/> Cadre 4 : Remarques de forme et de clarté<br><input type="checkbox"/> Cadre 5 : Défaut d'unité d'invention<br><input type="checkbox"/> Cadre 6 : Observations à propos de certaines revendications exclues de la brevetabilité<br><input checked="" type="checkbox"/> Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle |  |
| Examineur: BASMA SADIKI   | Date d'établissement du rapport : 24/07/2020 |
| Téléphone: 212 5 22 58 64 14/00   |  |



**Partie 1 : Considérations générales****Cadre 1 : base du présent rapport**

Les pièces suivantes de la demande servent de base à l'établissement du présent rapport :

- Description  
5 Pages
- Revendications  
2
- Planches de dessin  
3 Pages

**Partie 2 : Rapport de recherche**

Classement de l'objet de la demande :

CIB : G 01N 21/00

CPC : G01N21 / 80

Plateformes et bases de données électroniques de recherche :

EPOQUENET, WPI, ScienceDirect, IEEE, ORBIT

| <b>Catégorie*</b> | <b>Documents cités avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents</b> | <b>N° des revendications visées</b> |
|-------------------|---|-------------------------------------|
| A                 | CN104880461A ; WANG DI; LIANG SHENGGANG ; 2015/09/02                              | 1-2                                 |
| A                 | CA2536808 ; NutriAg Ltd ; 2005/03/03  | 1-2                                 |
| A                 | CN101162219; UNIV GUANGDONG OCEAN [CN] ; 2008/04/16                               | 1-2                                 |

**\*Catégories spéciales de documents cités :**

-« X » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

-« Y » document particulièrement pertinent ; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

-« A » document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

-« P » documents intercalaires ; Les documents dont la date de publication est située entre la date de dépôt de la demande examinée et la date de priorité revendiquée ou la priorité la plus ancienne s'il y en a plusieurs

-« E » Éventuelles demandes de brevet interférentes. Tout document de brevet ayant une date de dépôt ou de priorité antérieure à la date de dépôt de la demande faisant l'objet de la recherche (et non à la date de priorité), mais publié postérieurement à cette date et dont le contenu constituerait un état de la technique pertinent pour la nouveauté

**Partie 3 : Opinion sur la brevetabilité****Cadre 7 : Déclaration motivée quant à la Nouveauté, l'Activité Inventive et l'Application Industrielle**

|                          |                       |     |
|--------------------------|-----------------------|-----|
| Nouveauté                | Revendications 1-2    | Oui |
|                          | Revendications aucune | Non |
| Activité inventive       | Revendications 1-2    | Oui |
|                          | Revendications aucune | Non |
| Application Industrielle | Revendications 1-2    | Oui |
|                          | Revendications aucune | Non |

Il est fait référence aux documents suivants. Les numéros d'ordre qui leur sont attribués ci-après seront utilisés dans toute la suite de la procédure

D1 : CA2536808

**1. Nouveauté**

Aucun des documents cités ci-dessus ne divulgue l'ensemble des caractéristiques techniques faisant l'objet des revendications 1-2. Par conséquent, l'objet de celles-ci est nouveau au sens de l'article 26 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

**2. Activité inventive**

Le document D1 est considéré comme étant l'état de la technique le plus proche à l'objet de la présente demande. Il divulgue un indicateur acide-base naturel à base de composé de feuille de prune comme matière colorante naturelle ainsi que son procédé de préparation.

L'objet de la première revendication diffère de D1 en ce que la matière végétale utilisée est différente.

Le problème est alors considéré comme la recherche des indicateurs colorés d'origines naturelles alternatives.

Tenant compte de la grande diversité végétale et de l'absence d'incitation dans l'art antérieur à utiliser les extraits bétacyanines d'*Opuntia Dillenii* en tant qu'indicateur coloré de PH, il ne serait pas évident pour l'homme du métier d'obtenir la solution proposée par la présente invention sans faire preuve d'esprit inventif.

Par conséquent, l'objet de la revendication 1-2 implique une activité inventive au sens de l'article 28 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13.

**3. Application industrielle**

L'objet de la présente invention est susceptible d'application industrielle au sens de l'article 29 de la loi 17-97 telle que modifiée et complétée par la loi 23-13, parce qu'il présente une utilité déterminée, probante et crédible.