



MEMOIRE DE FIN D'ETUDES DE MASTER ACADEMIQUE

Filière : **GÉNIE DES PROCÉDÉS**

Option: **GÉNIE CHIMIQUE**

THÈME

Etude d'un procédé d'extraction de fruit de *Mellia azedarach*

Présenté par :

1-CHAA Hadj Charef

2-MANSOUR Basma

Soutenu le /... / 2024 devant le jury composé de :

Présidente :	Mme MEKIBES Zohra	MC	Université de Mostaganem
Examineur :	M.BENZEKRI BENALLOU Mokhtar	MCA	Université de Mostaganem
Rapporteur :	M. BENDERDOUCHE Nouredine	Pr	Université de Mostaganem

Année Universitaire 2023-2024

REMERCIEMENTS

Nous tenons à témoigner nos sincères remerciements à Dieu tout d'abord et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de notre projet de fin d'études et à l'élaboration de ce modeste travail.

Nos vifs remerciements s'adressent également à MEKIBES Zohra, docteure à l'Université Abdelhamid Ibn Baddis, d'avoir accepté de présider ce travail.

On tient à remercier également Dr BENZEKRI BENALLOU Mokhtar pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à exprimer notre sincère gratitude à Monsieur BENDERDOUCHE Noureidne pour ses conseils et direction de ce travail.

Nos sincères remerciements vont également à tous ceux et celles, qui de près ou de loin, ont permis par leurs conseils et leurs compétences la réalisation de ce mémoire.

Enfin, nous n'oserions oublier de remercier tous les enseignants du département de génie des procédés et de la faculté FST de l'université de Mostaganem pour le travail énorme qu'ils effectuent afin de créer les conditions les plus favorables pour le déroulement de nos études.

Dédicaces

Nous dédions ce travail surtout à nos parents, c'est grâce à eux que nous avons trouvé le chemin de la réussite et que nous avons pu suivre convenablement de longues études. Nous les remercions infiniment pour nous avoir supportés, dans les deux sens du terme. Sans leur travail et leur courage, rien n'aurait été possible. On ne leur sera jamais trop reconnaissant, ainsi qu'à tous les membres de notre famille, à nos amis (es) et tous ceux (celles) qui nous connaissent.

ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة تأثير بعض العوامل مثل تركيز المذيب في محلول الاستخلاص، نسبة المادة الصلبة إلى السائل (حجم المحلول - كتلة الثمار)، درجة الحرارة، زمن التلامس، طريقة الخلط. على التوتر السطحي والعيارة لمستخلص الثمرة الصفراء الفاتحة لنبات ميليا أزيدراخ.

Résumé

L'objectif de ce travail est d'étudier l'influence de quelques paramètres tels que la concentration du solvant dans la solution d'extraction, le rapport liquide-solide (volume de solution-masse de fruit), la température, le temps de contact, le mode d'agitation sur la tension superficielle et la turbidité de l'extrait du fruit jaune clair de la plante *Melia azedarach*.

Abstract

The objective of this work is to study the influence of a few parameters such as the concentration of the solvent in the extraction solution, the solid-liquid ratio (solution volume-fruit mass), the temperature, the contact time, the mode of agitation on the surface tension and turbidity of the extract of the light yellow fruit of the *Melia azedarach* plant.

I. Liste de tableaux

Tableau 1. Principaux procédés de séparation.....	16
Tableau 2. Classification de <i>Melia azedarach</i>	17
Tableau 3. Analyses chimiques (moyenne \pm écart-type) des feuilles de <i>Melia azedarach</i>	19
Tableau 4. Acides gras contenus dans l'huile de <i>Melia azedarach</i> d'Argentine ..	19
Tableau 5. Domaines de variation des paramètres	30

II. Liste des figures

Figure 1 : Procédé d'extraction par solvant	13
Figure 2 : Représentation schématisée du phénomène de cavitation acoustique	13
Figure 3 : Parties de <i>Melia azedarach</i> (A) tige de (B) fruit (C) fleurs (D) feuilles	18
Figure 4 : Structures de base d'acide hydroxybenzoïque (A) et Structures de base d'acides hydroxycinnamiques (B)	20
Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes	21
Figure 6 : Structures de base des Tanins condensés	21
Figure 7 : Les forces d'attraction entre les molécules à la surface et à l'intérieur du liquide	23
Figure 8 : Tensiomètre à plaque de Wilhemy: (a) détachement ; (b) statique	24
Figure 9 : Méthode de l'anneau	25
Figure 10 : Détachement d'une gouttelette de l'extrémité d'un tube.....	25
Figure 11 : Mesure de la turbidité	27
Figure 12 : Effet de la concentration alcoolique sur la tension superficielle du filtrat (T = 60 °C, temps de contact : 24 h, agitation magnétique)	32
Figure 13 : Effet de la concentration alcoolique sur la turbidité de l'extrait (T = 60 °C, temps de contact : 24 h, agitation magnétique).....	33
Figure 14 : Effet de la température sur la tension superficielle (temps de contact : 24 h, agitation magnétique, concentration alcoolique : 0%).....	35
Figure 15 : Effet de la température sur la turbidité (temps de contact : 24 h, agitation magnétique, concentration alcoolique : 0%)	36
Figure 16 : Effet du temps de contact sur la tension superficielle (Température 60 °C, concentration alcoolique 0%, agitation magnétique)	37
Figure 17 : Effet du temps de contact sur la turbidité (température 60 °C, concentration alcoolique 0%, agitation magnétique)	38
Figure 18 : Effet du mode d'agitation magnétique (AM) et à l'air (AA) sur la tension superficielle et la turbidité des extraits de pulpe de la plante <i>Melia azedarach</i> – pour les conditions : Concentration en alcool 0%, temps d'agitation : 24 h , rapport liquide-solide 1 : 20 g/mL.....	39

Table des matières

I.	Liste de tableaux	
II.	Liste des figures	
	Introduction générale	1
	Chapitre 1 : Partie bibliographique	
1.	Méthodes de séparation en génie des procédés.....	3
1.1.	Extraction liquide-liquide.....	3
1.1.1.	Extraction par Solvatation.....	4
1.1.2.	Extraction par chélation.....	4
1.1.3.	Extraction par échange cationique.....	5
1.1.4.	Extraction par échange d'ion.....	6
1.2.	Extraction liquide-solide	7
1.2.1.	Chromatographie.....	7
1.2.2.	Adsorption.....	8
1.2.3.	Électrophorèse.....	8
1.3.	Méthodes classiques d'extraction.....	12
1.3.1.	Extraction par macération.....	12
1.4.	Méthodes moderne d'extraction.....	13
1.4.1.	Extraction par ultrasons (EUS)	13
1.4.2.	Extraction assistée par microondes (EAM).....	14
1.4.3.	Extraction par liquide pressurisé (ELP).....	14
1.4.4.	Extraction par fluide supercritique (EFS).....	15
2.	Généralités sur <i>Melia azedarach</i>	16
2.1.	Origine et répartition géographique	17
2.2.	Taxonomie.....	17
2.3.	Caractéristiques morphologiques	17

2.4.	Composition chimique de la plante	18
3.	Composés phénoliques.....	19
3.1.	Définition	19
3.2.	Acides phénoliques	20
3.3.	Flavonoïdes	20
3.4.	Tannins	21
4.	La tension superficielle	21
4.1.	Mesure des tensions superficielles	23
4.1.1.	Méthodes sur plaque Wilhelmy.....	23
4.1.2.	Méthode de l'anneau (ring method).....	24
4.1.3.	Méthodes de volume de goutte et de poids de goutte.....	25
4.1.4.	Méthode stalagmométrique	26
5.	La turbidité.....	26
5.1.	Mesure de turbidité.....	26
6.	Influence de l'agitation sur l'extraction.....	27
6.1.	Augmentation du transfert de masse	27
6.2.	Homogénéisation du mélange	27
6.3.	Réduction de la couche limite	28
6.4.	Prévention de la formation des dépôts	28
6.5.	Amélioration de la dissolution des substances solides.....	28
6.6.	Contrôle de la température	28
6.7.	Formation d'émulsion	28
Chapitre 2 : Partie expérimentale		
7.	Matériel et méthodes.....	29
7.1.	Matériel végétal.....	29
7.2.	Méthodes de calcul.....	29
7.2.1.	Tension superficielle29

7.2.2. Turbidité.....	29
8. Effet des conditions d'extraction sur tension superficielle et turbidité.....	29
8.1. Concentration de solvant.....	29
8.2. Rapport masse de fruit-volume de solution.....	29
8.3. Température.....	29
8.4. Temps.....	29
8.5. Mode d'agitation.....	30
8.6. Influence des paramètres.....	31
8.6.1. Effet de la concentration alcoolique et du rapport solide-liquide sur la tension superficielle.....	31
8.6.2. Effet de la concentration alcoolique et du rapport solide-liquide sur la turbidité... .	32
8.6.3. Effet de la température et du rapport solide-liquide sur la tension superficielle.....	34
8.6.4. Effet de la température et du rapport solide-liquide sur la turbidité.....	35
8.6.5. Effet du temps de contact sur la tension superficielle.....	36
8.6.6. Effet du temps de contact sur la turbidité.....	37
8.6.7. Effet du mode d'agitation sur la tension superficielle et la turbidité	38
Conclusion générale.....	40
Références.....	42
Annexe	

Introduction générale

L'étude de la chimie des plantes médicinales est toujours d'une actualité malgré son ancienneté. Cela tient principalement au fait que le règne végétal représente une source importante d'une immense variété de molécules bioactives. Cette matière végétale contient un grand nombre de molécules qui ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie alimentaire, en cosmétologie et en pharmacie. Parmi ces composés on retrouve, les coumarines, les alcaloïdes, les acides phénoliques, les tannins, les terpènes et les flavonoïdes [1].

Les polyphénols sont en effet doués de multiples vertus thérapeutiques, ils jouent un rôle très important, principalement, dans la lutte contre les cancers, les maladies cardiovasculaires et la peroxydation lipidique, expliquant de ce fait leur grande utilisation dans la fabrication des médicaments. Ils interviennent aussi dans la protection des plantes contre les différentes attaques microbiennes (surtout fongiques) risquant de causer la perte d'une grande quantité de végétation.

Les composés polyphénoliques constituent une partie importante du groupe bioactif. Ces composés constituent une famille diversifiée comportant plus d'un groupe hydroxyle avec une structure allant d'une simple molécule à un polymère complexe. Les composés sont naturellement présents en petites quantités dans divers aliments, arbustes et plantes médicinales comme le thé, les raisins, les légumes, le vin, les céréales, le café, l'eucalyptus et le neem. Les polyphénols possèdent des propriétés antioxydantes, anticancérogènes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes [2–7].

Melia azedarach est connue comme une importante source de nombreux composés bioactifs caractérisés par leurs multifonctions exploitées aussi bien en médecine (anticancéreux, anti-oxydants, anti-microbiens, anti-inflammatoires et immunosuppresseurs) que dans la protection phytosanitaire pour leurs activités insecticides, anti-appétants, régulation de la croissance et la capacité de prévention des maladies [8]. Le fruit de cette plante est riche en acides gras dont l'acide stéarique, substance tensioactive.

Par ailleurs, l'utilisation de composés bioactifs dans différents secteurs (pharmaceutique, alimentaire et chimique) nécessite une méthode plus appropriée pour

extraire ces composants actifs des matières végétales. L'extraction consiste à séparer les parties bioactives de tissus végétaux des composants inactifs ou inertes en utilisant des solvants sélectifs dans les procédures d'extraction [9]. Le choix d'une technique d'extraction appropriée est également important, car elle est utilisée pour éliminer les constituants solubles souhaitables, en éliminant ceux qui ne sont pas nécessaires à l'aide des solvants[10]. Ainsi, plusieurs paramètres ont une influence directe sur la qualité de l'extrait et l'efficacité de la technique, y compris la nature chimique des composés, la méthode d'extraction utilisée, le type et la concentration de solvant, la granulométrie des particules de l'échantillon, le temps et la température d'extraction [11] .

L'objectif de présent travail consiste donc à déterminer les conditions d'extraction convenables des composés bioactifs à partir d'une pulpe (fruit de *Melia azedarach*), et ainsi montrer l'effet des paramètres suivants : la concentration du solvant, le rapport liquide : solide (volume de solution : masse d'échantillon), le temps d'extraction, la température d'extraction et le mode d'agitation sur la tension superficielle et la turbidité des extraits du fruit de la plante *Melia azedarach*.

Afin d'améliorer la lisibilité et la structure du manuscrit, ce dernier est organisé en trois grandes parties :

- La première partie concerne la description des techniques d'extraction, une synthèse des données bibliographiques sur la plante *Melia azedarach* et les composés phénoliques,
- La deuxième partie présente le matériel et les méthodes utilisés pour étudier l'influence des paramètres opératoires sur la tension superficielle et la turbidité de l'extrait,
- La troisième partie est consacrée aux résultats et discussion.

Chapitre 1 : Partie bibliographique

1. Méthodes de séparation en génie des procédés

Une méthode de séparation est une technique qui permet de séparer deux ou plusieurs composants d'un produit. L'objectif de la séparation peut être la purification, la concentration d'une solution, le fractionnement d'un mélange, l'enrichissement d'un composé, l'isolement d'une substance active, le traitement d'eaux usées, etc. La séparation se produit quand :

- les composés possèdent des propriétés physiques différentes (masses volumiques, tailles ou propriétés particulières) qui permettront une séparation mécanique ;
- un équilibre se produit entre deux phases ;
- les vitesses de transfert sont différentes.

Nous abordons brièvement quelques méthodes de séparation.

1.1.Extraction liquide-liquide

L'extraction liquide-liquide constitue une opération unitaire du génie chimique et du génie des procédés. Elle doit son origine à la chimie analytique dont les méthodes d'identification des espèces en solution sont fondées sur des techniques de séparation. Plus précisément, l'extraction liquide-liquide est un procédé qui permet la séparation de deux ou plusieurs constituants d'un mélange en mettant à profit leur distribution inégale entre deux liquides pratiquement non miscibles.

Généralement, on met en contact intime une solution d'alimentation, contenant les constituants à séparer (solutés) avec une seconde phase liquide appelée solvant souvent composée d'un extractant et d'un diluant, voire d'un modificateur de phase, qui extrait préférentiellement un ou plusieurs des solutés.

Selon la nature des interactions mises en jeu par l'extractant, les phénomènes d'extraction sont classés en quatre catégories essentielles qui sont :

1. L'extraction par solvatation
2. L'extraction par échange de cations
3. L'extraction par chélation
4. L'extraction par échange d'anions

1.1.1. Extraction par solvation

L'extraction par solvation est mise à profit lors de l'emploi d'extractants non acides, qui possèdent des groupements donneurs d'électron : O, N, S, P. L'extraction est réalisée par déshydratation de M^{n+} suite à la substitution, dans la première sphère d'hydratation, des molécules de H_2O par celles du solvant. L'entité extraite est une paire d'ions, électriquement neutre. Les solvatants les plus utilisés sont les éthers, les cétones, les alcools et les composés phosphorylés. L'équilibre d'extraction du cation M^{n+} associé à l'anion A^- est régi par l'équation : $M^{n+} + n X^- + e E \Leftrightarrow MX_nE_e$

où

E: le composé organique (extractant) ou solvant,

M^{n+} : ion métallique,

X^- : contre ion ou anion associé à M^{n+} ,

1.1.2. Extraction par chélation

En général, l'ion métallique (M^{n+}) extrait en phase organique est solvatoé sous forme d'espèce neutre. La neutralité de la charge électrique des entités organiques et la coordination de l'élément extrait sont assurées respectivement par échange protonique et par solvation. Pour répondre à ces exigences lors du phénomène d'extraction par chélation, la molécule d'extractant fonctionne à la fois comme échangeur de cations et comme solvant. Elle doit donc renfermer, d'une part, un groupement fonctionnel acide faible OH^- ou SH^- et, d'autre part, un atome donneur d'électrons, le plus souvent un atome d'oxygène, de soufre, de phosphore ou d'azote susceptible d'engager un doublet électronique et d'établir avec le métal extrait une liaison chimique. C'est ce caractère de base de Lewis hydrophobe qui est à la base de la substitution des molécules d'eau de coordination par l'extractant. Dans ce cas de chélation (où l'extractant est un monoacide), le nombre de molécules chélatantes présentes dans le complexe extrait est égal à la charge du cation M^{n+} . Il importe d'indiquer que lors de ce phénomène, l'échange ionique est combiné au processus de solvation. L'extraction des cations métalliques est très faible à partir des solutions aqueuses fortement acides. Néanmoins, ces solutions conviennent mieux à l'extraction en retour dite aussi réextraction ou non extraction. Les solvatants les plus utilisés sont souvent des composés oxygénés, parmi lesquels on peut citer :

- Les alcools : éthanol, méthanol

- Les éthers : l'éther et les éthers de glycol
- Les esters : acétate d'éthyle
- Les cétones : acétone
- Les acides : acide acétique
- Le diméthylformamide (DMF),
- Le diméthylsulfoxyde (DMSO),
- L'hexaméthylphosphorique triamide (HMPT)

1.1.3. Extraction par échange cationique

Les extractants appartiennent à la classe des acides et échangent leur hydrogène acide avec le cation métallique, formant ainsi un sel neutre dans la phase organique. Cependant leur efficacité d'extraction dépendra de leur pouvoir acide. Ainsi, les acides carboxyliques présentent une efficacité d'extractions plus faibles que celle des acides sulfoniques et phosphoriques.

Dans le cas d'une extraction par échange de cations, la réaction entre l'acide RH présent en phase organique avec le cation métallique (M^{m+}) de la phase aqueuse est la suivante :



La constante d'équilibre, K_m , est donnée par l'expression :

$$K_m = \frac{[MR_m][H^+]^m}{[M^{m+}][RH]^m}$$

Le coefficient de distribution D est donné par la relation :

$$D = \frac{M_T}{M_T} = \frac{[MR_m]}{[M^{m+}]}$$

Ce qui permet d'obtenir la relation logarithmique :

$$\log D = \log K_m + m \text{ pH} + m \log[RH]$$

Lorsque le cation métallique est à l'échelle de traces, on peut négliger la consommation de l'agent extractant lors du phénomène de distribution du M^{m+} . Ceci permet d'écrire :

$$C_{RH} = [RH]$$

C_{RH} étant la concentration analytique de l'extractant. L'expression (...) devient :

$$\log D = \log K_m + m \text{pH} + m \log C_{RH}$$

Cette relation simplifiée n'est exploitable que lorsque le métal n'est extrait que sous la forme d'une seule espèce (m nombre entier) et lorsque l'extractant est en excès. Elle montre que D dépend de la constante de stabilité du complexe MR_m , de la concentration de l'extractant, de la charge du cation métallique et du pH de la solution aqueuse.

Le mécanisme d'extraction des métaux par des extractants acides, dépend souvent des propriétés du diluant utilisé. Pour les acides organophosphoriques ou carboxyliques, on assiste parfois à l'association de l'extractant en dimères ou polymères dans la phase organique. Une telle association résulte surtout de liaison hydrogène et modifie considérablement leurs propriétés extractives[12].

1.1.4. Extraction par échange d'ion

Certains milieux aqueux complexent les cations métalliques en formant des espèces anioniques. L'extraction peut être décrite par l'équilibre général suivant:



Avec: $n > m$

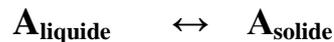
Ces entités ne sont extraites qu'en présence d'un extractant possédant un anion pouvant être échangé contre l'anion métallique, soit:



Les principaux extractants qui relèvent de ce mécanisme sont les cations ammonium et arsonium. Les plus utilisés restent les sels d'ammonium quaternaires et les amines tertiaires à longues chaînes carbonées[13].

1.2.Extraction liquide-solide

L'extraction liquide-solide ou l'extraction en phase solide (Solid Phase Extraction, SPE) est un procédé de transfert de matière d'une ou de plusieurs espèces d'une phase liquide (en général, aqueuse) vers une phase solide. Elle est apparue à la fin des années 1960 et connaît un essor considérable. Aujourd'hui, elle représente une part importante à l'échelle de laboratoire et industriel dans le cadre de développement des technologies de séparation et de purification. Comme pour l'extraction liquide-liquide, le soluté A se partage entre deux phases, liquide et solide, et l'équilibre suivant s'établit:



$[C_{\text{liquide}}]$ et $[C_{\text{solide}}]$ représentent, respectivement, les concentrations du soluté A dans la phase liquide et dans la phase solide.

Le coefficient de distribution (partage) D est défini par la relation suivante :

$$D = \frac{[C_{\text{solide}}]}{[C_{\text{liquide}}]}$$

1.2.1. Chromatographie

La chromatographie est une méthode physique de séparation basée sur les différences d'affinité des substances à analyser à l'égard de deux phases, l'une stationnaire ou fixe, l'autre mobile. Selon la technique chromatographique mise en jeu, la séparation des composants entraînés par la phase mobile, résulte soit de leur adsorption et leur désorption sur la phase stationnaire, soit de leur différente solubilité dans chaque phase. On peut classer les méthodes chromatographiques selon la nature des phases utilisées ou celle des phénomènes mis en œuvre dans la séparation.

1.2.3.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Cette méthode se repose sur la séparation des différents constituants d'un extrait selon leur force de migration dans la phase mobile qui est en général un mélange de solvants, adapté au type de séparation recherché, et leur affinité vis-à-vis la phase stationnaire qui peut être un gel de polyamide ou de silice. Elle nous permet d'avoir les empreintes du contenu de l'extrait.

1.2.3.2 Chromatographie sur papier (CP)

Cette technique de séparation repose sur le phénomène de partage des constituants d'un extrait entre la phase stationnaire et la phase mobile. Elle utilise une phase stationnaire

constituée par l'eau elle-même absorbée par la cellulose du papier ou liée chimiquement à elle. La phase mobile est le plus souvent un mélange très polaire de solvants organiques et de l'eau, qui entraîne les molécules séparées avec des vitesses différentes, selon leur degré d'affinité vis-à-vis des deux phases. Elle est généralement appliquée pour la séparation et parfois la purification des produits en faible quantité, soit en mode monodimensionnel ou bidimensionnel.

1.2.2. Adsorption

La technologie de séparation par adsorption est le processus au cours duquel des molécules d'un fluide (gaz ou liquide), appelé adsorbat, viennent se fixer sur la surface d'un solide, appelé adsorbant. Par la surface du solide, on sous-entend les surfaces externes et internes engendrées par le réseau des pores et cavités à l'intérieur de l'adsorbant. Il existe deux types de processus d'adsorption: adsorption physique (ou physisorption) et adsorption chimique (ou chimisorption).

- **La physisorption** est une adsorption de type physique, où la fixation des molécules d'adsorbat sur la surface d'adsorbant se fait essentiellement par le biais des forces de van der Waals et les forces dues aux interactions électrostatiques. L'adsorption physique se produit sans modification de la structure moléculaire et elle est parfaitement réversible.
- **La chimisorption** est une adsorption de type chimique, qui résulte des forces de liaison de nature chimique, nettement supérieures aux forces de van der Waals avec mise en commun d'un transfert d'électrons. Dans cette adsorption, il y a des ruptures et des créations de liaisons chimiques en surface entre le réactif et les sites actifs de l'adsorbant. Le processus est beaucoup moins réversible et même parfois irréversible.

1.2.3. Électrophorèse

C'est une des nombreuses techniques de séparation et d'analyse de particules chargées par migration différentielles sous l'action d'un champ électrique. Des particules chargées sont donc placées dans un champ électrique créé par une tension continue et se déplacent vers le pôle de signe opposé à leur charge à une vitesse proportionnelle à cette charge. Si on dépose une espèce anionique (chargée négativement), elle migrera vers l'anode (+) et une espèce cationique (chargée positivement) du côté de la cathode (-)[14].

Principe

L'électrophorèse consiste à faire migrer et à fractionner grâce à un champ électrique, et dans un tampon de pH déterminé, les constituants séparés en fonction de leur charge électrique. Ce principe d'électrophorèse s'applique aux protéines et pour qu'ils puissent migrer, elles doivent être ionisées. C'est ce qui se produit lorsque le milieu est au pH alcalin supérieur au pH isoélectrique (pHi) de différentes protéines[15] .

1.2.3.3 Appareillage d'électrophorèse

L'appareillage usuel est constitué d' :

- un générateur du courant continu stabilisé relié aux électrodes de la cuve. Ce courant crée un champ électrique qui va permettre de faire migrer les molécules.
- une cuve d'électrophorèse fermée (horizontale ou verticale) et éventuellement thermostatée comportant deux compartiments. Chaque compartiment est rempli du tampon de migration.
- des accessoires comme le support d'électrophorèse, les plaques de verre pour couler le gel et les peignes pour creuser des puits dans le gel, dans lesquels les composés à analyser seront déposés [16].

Types d'électrophorèse

L'électrophorèse peut être en des conditions non dénaturantes ou en des conditions dénaturantes.

Electrophorèse en des conditions non dénaturantes

Les molécules sont séparées dans leur état le plus proche possible de leur état natif. La vitesse de migration dépend de la charge native de la molécule et de sa structure tridimensionnelle [15].

Electrophorèse en des conditions dénaturantes

Les molécules sont soumises à un traitement dénaturant avant la séparation électrophorétique, détruisant la structure tridimensionnelle native. La séparation est donc en fonction de la masse moléculaire. Les agents de dénaturation sont le SDS (Sodium Dodécyl Sulfate) et le β -mercaptoéthanol qui réduit les ponts disulfures des protéines. Le SDS est un dénaturant doux et un surfactant, il agit sur les protéines de plusieurs façons: - Si la protéine est oligomérique, ses sous unités sont séparées les unes des autres. - Il se fixe sur les protéines, les tapissant de charge négative. Les protéines transformées en manopolyanions,

possèdent toutes la même mobilité électrophorétique. La charge négative globale permet la migration vers l'anode, mais les molécules sont séparées uniquement en fonction de leur masse moléculaire [15].

Electrophorèse en veine liquide (électrophorèse libre)

Il s'agit de la première méthode électrophorétique décrite. La solution échantillon est placée dans un tube en U et recouverte d'une solution tampon de densité plus faible que celle de l'échantillon pour éviter les courants de convection. Les électrodes sont placées dans le tube où l'on applique le champ électrique. La migration dans ce cas s'effectue au sein d'un liquide constitué par une solution tampon de pH et de concentration convenable dont les ions conduisent le courant d'un pôle à un autre. Ce type de d'électrophorèse présente de multiples inconvénients (Appareillage couteux, mise en œuvre longue et délicate, séparation incomplète des particules) [17].

Electrophorèse de zones

Les principales applications utilisent un support poreux stabilisant la phase liquide : on parle alors d'électrophorèse sur support ou d'électrophorèse de zones. Le mélange à séparer est déposé sur un support convenable, poreux et imprégné de tampon (papier, dérivés de cellulose, polyside « agarose », polyacrylamide...). Le support doit être homogène, poreux et inerte. Cependant, la condition d'inertie n'est jamais respectée et le support joue un rôle plus ou moins important dans la séparation.

Les différents types d'électrophorèses de zones sont souvent nommés en fonction du type de support :

Électrophorèse sur papier

Assez peu résolutive, cette technique d'électrophorèse est surtout destinée à séparer des molécules de petite taille, dont les acides aminés. Des phénomènes d'interférence liés à la charge des acides aminés et de la cellulose du papier interviennent de façon notable. Une goutte de solution contenant l'échantillon à analyser est déposée sur une bande de papier, puis séchée. La bande de papier est humidifiée avec un tampon convenablement choisi, puis les deux extrémités de la bande sont plongées dans deux réservoirs contenant le tampon. Chaque réservoir est connecté à une électrode. Un champ électrique continu est appliqué, et les acides aminés se déplacent en fonction de leur charge nette. En fin d'électrophorèse, la bande de

papier est séchée puis les acides aminés sont révélés par une réaction colorimétrique telle que celle à la ninhydrine [18] .

Électrophorèse sur acétate de cellulose

L'électrophorèse se fait dans des conditions proches de celles de l'électrophorèse sur papier. Les bandes d'acétate de cellulose sont fragiles, mais elles limitent la diffusion des molécules à séparer. La révélation des protéines se fait également par une réaction colorimétrique (rouge de ponceau par exemple). Cette technique, peu résolutive, permet de séparer grossièrement des groupes de protéines. Elle est peu coûteuse et permet une analyse rapide des protéines sériques [19].

Électrophorèse sur gel d'amidon

L'électrophorèse sur gel d'amidon est particulièrement utile pour l'analyse et la séparation des isoenzymes. Le principe de la technique repose sur une séparation électrophorétiques des protéines sur une matrice poreuse composée d'un gel d'amidon, de pH précis. Les enzymes présentes sont détectées en incubant le gel dans une solution contenant un substrat spécifique de l'enzyme donnant lieu à un produit coloré. Les profils obtenus sont désignés sous le nom de zymogrammes [18].

Électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode utilisée en biochimie et en biologie moléculaire pour séparer les protéines, l'ADN, l'ARN en fonction de leurs masses moléculaires. Les molécules de plus petites tailles se déplacent plus rapidement et migreront plus loin que les molécules de tailles supérieures[20] .

Électrophorèse sur gel de polyacrylamide

Les gels, formés entre deux plaques de verre, sont obtenus par polymérisation d'un mélange d'acrylamide ($\text{CH}_2 = \text{CH-CO-NH}_2$) et de bisacrylamide ($\text{CH}_2 = \text{CH-CO-NH-CO-CH=CH}_2$), ce qui aboutit à la formation d'un réseau réticulé. Les concentrations en acrylamide et le ratio acrylamide/bisacrylamide déterminent la taille des pores et donc les capacités résolutives du gel. Ces techniques peuvent être utilisées pour séparer des protéines ou bien des acides nucléiques (de courte séquence en général) en condition native ou dénaturante. L'électrophorèse est réalisée à l'aide d'un montage vertical, les échantillons étant déposés dans des puits localisés au sommet du gel [A].

Electrophorèse capillaire

C'est une technique récente qui commence à se développer et qui offre essentiellement les avantages de la rapidité, de la très grande résolution et, partant, de la très grande sensibilité de la détection. L'électrophorèse utilise un capillaire de silice de diamètre d'environ 50 µm et de longueur 1 m (rempli de tampon ou de gel), et des voltages élevés (15 à 30 kV). Ceci aboutit à des vitesses de migration très rapides des composés dans les capillaires et ceux-ci sont détectés par absorption U.V., fluorimétrie ou conductimétrie directement sur le capillaire, donc dans un volume très faible. Ceci fournit donc une sensibilité particulièrement élevée (on injecte seulement quelques nanolitres de l'échantillon). Les domaines d'application sont a priori nombreux : analyse de peptides, d'acides aminés, d'oligonucléotides ... Le nombre de plateaux est de l'ordre de 500 000 par mètre, ce qui fournit une résolution remarquable (on peut séparer des peptides différant d'un acide aminé, des mélanges complexes d'oligonucléotides, des fragments tryptiques de peptides ; la méthode est utilisée pour tester la pureté de peptides ou d'oligonucléotides de synthèse...). La technique peut également s'appliquer à des molécules non ionisées en présence de micelles de détergents appropriés[21].

1.3.Méthodes classiques d'extraction

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs. Les méthodes traditionnelles sont celles utilisant les procédés de base les plus simples pour extraire le principe actif [22].

1.3.1. Extraction par macération

La macération (ou extraction par solvant à froid) est la méthode d'extraction solide-liquide la plus simple. Elle consiste en la mise en contact du matériel végétal avec le solvant sans ou avec agitation, habituellement à température ambiante. L'opération bien que généralement longue et à rendement souvent médiocre, est utilisée dans le cas d'extraction de molécules thermosensibles. Pour être efficace, une macération sans agitation, peut durer de 4 à 10 jours environ ; ceci peut présenter quelques inconvénients. En termes de fermentation, ou de contamination bactérienne notamment si le solvant utilisé est de l'eau. Ces phénomènes peuvent entraîner une dégradation des molécules actives. En vue d'éviter ou de réduire ces inconvénients, la macération peut être opérée dans un récipient couvert, le tout à l'abri de la lumière et dans certains cas, maintenue dans un réfrigérateur[23,24] .

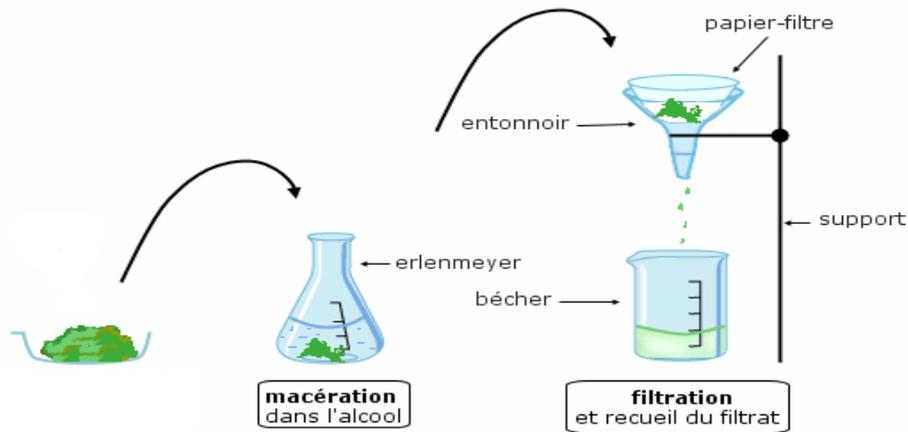


Figure 1 : procédé d'extraction par solvant

1.4. Méthodes moderne d'extraction

1.4.1. Extraction par ultrasons (EUS)

L'extraction des composés bioactifs par ultrasons est une technique simple, efficace et peu coûteuse [26] qui offre beaucoup de reproductibilité en peu de temps, trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant. Elle est facile à mettre en œuvre et peu consommatrice de solvant et d'énergie. En effet, la matière première est immergée dans l'eau ou dans le solvant, et en même temps soumise à l'action des ultrasons. Elle a été reconnue pour son application potentielle dans l'extraction des huiles essentielles (carvone, gingerols, huile d'amande...), des protéines (soja), des polyphénols, des anthocyanines, des saponines, des polysaccharides ainsi que dans la pasteurisation et la production de produits laitiers[25].

Le principe de cette procédure est illustré sur la Figure 2.

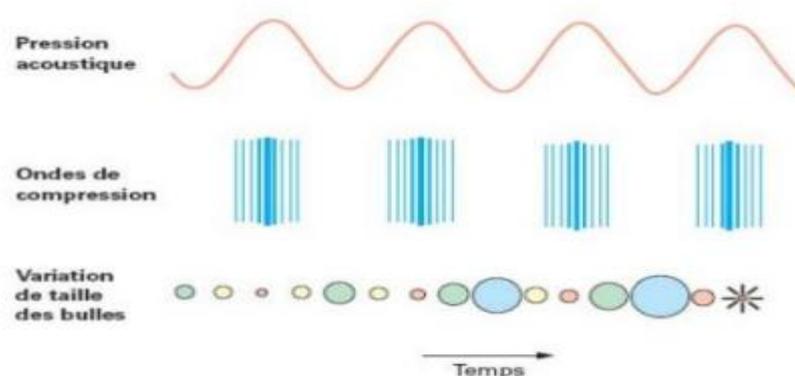


Figure 2 : Représentation schématique du phénomène de cavitation acoustique [26]

L'ultrason fait référence aux ondes sonores qui génèrent des vibrations mécaniques dans un solide, un liquide ou un gaz. À la différence des ondes électromagnétiques, les ondes sonores peuvent se propager dans une matière et elles impliquent des cycles d'expansion et de compression lors de la propagation dans le milieu. L'expansion peut créer des bulles qui se forment, se développent et s'effondrent dans un liquide. Près d'une surface solide, l'effondrement de cavité est asymétrique et produit un jet de liquide à grande vitesse[27]. Ce phénomène est appelé la cavitation acoustique.

1.4.2. Extraction assistée par microondes (EAM)

L'utilisation de l'EAM dans l'extraction de produits naturels a commencé à la fin des années 1980 et, grâce aux développements technologiques, elle est devenue l'une des méthodes d'extraction les plus populaires et les plus rentables disponibles. Cette méthode permet d'effectuer plusieurs extractions quantitatives d'échantillons en quelques minutes, avec une reproductibilité améliorée et une consommation de solvant réduite. Une température élevée et un contrôle de la température peuvent également être obtenus en utilisant ce processus [28].

Les microondes sont des radiations électromagnétiques d'une fréquence de 0,3 à 300 GHz [30]. Les microondes sont transmises sous forme d'ondes, qui peuvent pénétrer dans les biomatériaux et interagir avec des molécules polaires telles que l'eau dans les biomatériaux pour créer de la chaleur. Par conséquent, les microondes peuvent chauffer un matériau entier à la profondeur de pénétration simultanément. L'extraction assistée par microondes (EAM) offre une livraison rapide d'énergie à un volume total de solvant et de matrice végétale solide avec chauffage ultérieur du solvant et de la matrice solide, de manière efficace et homogène. Parce que l'eau dans la matrice végétale absorbe l'énergie microondes, la perturbation cellulaire est favorisée par la surchauffe interne, ce qui facilite la désorption des produits chimiques de la matrice, améliorant la récupération des nutraceutiques [29].

1.4.3. Extraction par liquide pressurisé (ELP)

Cette technique alternative d'extraction est réalisée à pression élevée. Cela permet d'augmenter la température d'ébullition du solvant et de réaliser l'extraction à températures plus élevées qu'à pression ambiante. La haute pression appliquée, le plus souvent comprise entre 4 et 20 MPa, assure que le solvant se maintient à l'état liquide à la température appliquée [30].

Les températures élevées d'extraction favorisent le transfert de matière et augmentent les taux d'extraction, parce qu'elles impliquent généralement : une augmentation de la capacité des solvants pour la solubilisation de solutés, une augmentation des taux de diffusion, une meilleure rupture des liaisons soluté-matrice, une diminution de la viscosité du solvant et une diminution de la tension superficielle [30, 31].

L'extraction par liquide pressurisé est également connue comme extraction par solvant sous pression, extraction par solvant sous critique ou extraction accélérée par solvant. Lorsque l'eau est utilisée comme solvant, l'ELP est généralement appelée extraction à l'eau surchauffée, extraction avec de l'eau sous-critique, extraction avec de l'eau pressurisée ou extraction avec de l'eau chaude sous pression. L'ELP nécessite généralement moins de temps et une plus faible consommation de solvant organique par rapport aux techniques conventionnelles. L'utilisation de l'ELP pour l'extraction de polyphénols à partir de co-produits de fruits et légumes a été brevetée [32].

1.4.4. Extraction par fluide supercritique (EFS)

L'extraction par fluide supercritique est une technique relativement récente qui présente divers avantages par rapport aux méthodes conventionnelles. Elle se fait à de basses températures favorables à l'extraction des composés thermosensibles. Elle permet aussi d'augmenter le rendement d'extraction de ces composés [33]. Le point critique d'une substance pure est le plus haut point de température et de pression auquel la substance est à l'état d'équilibre liquide-vapeur. Au-dessus de ce point, un fluide se forme et cet état est appelé état supercritique. Le fluide supercritique possède à la fois les caractéristiques du gaz et du liquide. Ce fluide de faible viscosité, de faible tension de surface et de fort coefficient de diffusion peut pénétrer les micropores des cellules végétales afin d'extraire au mieux les biomolécules [34].

Il peut ainsi permettre l'extraction d'une large variété de composés organiques. Vu sa grande disponibilité, sa non-toxicité, son caractère non-inflammable et sa stabilité chimique, le CO₂ est le solvant le plus utilisé à l'état supercritique pour l'extraction des biomolécules: T = 31,1 °C et P = 73,3 MPa [33]. Cependant, les polyphénols ne sont pas totalement extraits par le CO₂ supercritique à cause de leur forte polarité. L'extraction des polyphénols par cette technique nécessite l'ajout des modificateurs organiques tels que le méthanol [35]. Parmi les méthodes de séparation, les principales sont regroupées dans le Tableau 1.

Tableau 1. Principaux procédés de séparation [36]

Procédé	Agent de séparation	Force motrice ou fonction thermodynamique	Applications
Tamissage, criblage	Tamis, crible	Taille des particules	Séparation des solides pulvérulents ($d > 100 \mu\text{m}$)
Flottation	Liquide	Mouillabilité de surface	Séparation des minerais de leur gangue
Filtration	Membrane poreuse	Taille des particules	Séparation des solides en suspension dans un liquide ou un gaz ($d > 10 \mu\text{m}$)
Triage magnétique	Source magnétique	Mobilité magnétique	Séparation magnétique des métaux ferreux
Triage électrique	Source électrique	Mobilité électrique	Séparation de solides conducteurs
Décantation	Liquide	Masse volumique	Décantation des eaux usées ou de rivière
Centrifugation	Energie centrifuge	Masse volumique	Séparation des solides en suspension dans un liquide ou dans un gaz ($d > 1 \mu\text{m}$)
Distillation	Chaleur	Volatilité relative	Séparation de mélanges liquides et gazeux (sous pression)
Evaporation	Chaleur	Volatilité relative	Concentration d'une solution par évaporation du solvant
Cristallisation	Refroidissement	Solubilité	Formation de cristaux par refroidissement
Extraction liquide-liquide	Solvant	Coefficient de partage	Séparation d'un soluté d'une solution par solvant
Extraction solide-liquide	Solvant	Coefficient de partage	Séparation d'un soluté d'une matrice solide par solvant
Absorption	Solvant	Coefficient de transfert	Elimination d'un soluté d'un mélange gazeux
Adsorption	Solide poreux	Coefficient de transfert	Fixation d'une molécule sur un solide adsorbant
Procédés membranaires	Membrane poreuse	Taille des molécules	Tri sélectif de molécules à travers une membrane
Echange d'ions	Solide poreux ionique	Coefficient d'affinité	Echange d'ions entre une solution et une résine échangeuse d'ions

2. Généralités sur *Melia azedarach*

Cette section s'intéresse à la plante étudiée, en l'occurrence, le fruit de la plante *Melia azedarach*.

Melia azedarach a été découverte pour la première fois vers le début du vingtième siècle, durant les grandes invasions acridiennes : Palestine en 1915, Inde en 1926, Alger en 1888-1894, durant lesquelles l'arbre était épargné par les criquets. Depuis, nombreux sont les

chercheurs qui ont consacré leurs investigations a ce sujet, et découvert divers effets caractéristiques de l'arbre sur différentes espèces d'organismes nuisibles [37].

2.1. Origine et répartition géographique

Melia azedarach, le faux neem, arbre à chapelets, Chinaberry, lilas de perse ou grand lilas, est une plante rudérale, de la famille des méliacées et d'origine asiatique, plus précisément de l'Inde, mais elle pousse également dans les régions méditerranéennes, européennes, dans toute l'Asie, l'Amérique du sud, l'Australie, en Afrique et dans les Mascareignes. De cette très large répartition géographique découle une vingtaine appellations à travers le monde [37].

2.2. Taxonomie

La taxonomie de *Melia azedarach* est résumée dans le Tableau 2.

Tableau 2. Classification de *Melia azedarach* [38]

Règne	Plantae
Sous-règne	Spermaphyte
Divisions	angiosperme
Classe	Dicotyledone
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindale
Famille	Meliaceae
Genre	Melia

2.3. Caractéristiques morphologiques

Melia azedarach est une espèce d'arbre à feuilles caduques et persistantes. Généralement, l'arbre mesure de 8 à 15 m de hauteur, mais il peut atteindre jusqu'à 30 m et de 30 à 60 cm de diamètre. Il est aussi caractérisé par son tronc sombre très rameux, une écorce craquelée et blanche claire avec les cicatrices apparentes sur les feuilles, lui donnant son aspect noueux. Cet arbre se reconnaît facilement par son feuillage léger, en buisson d'un beau vert, contrastant avec le tronc. La densité du feuillage à l'extrémité des rameaux est due à sa disposition en spires serrées (B). Les feuilles sont caduques surtout au moment de la maturation des fruits. La floraison a lieu au mois de septembre-novembre (avant la saison des pluies), et la fructification, de novembre à mars [37]. L'installation est caractérisée par la présence d'une cime étalée, vert, dense et sombre. Son écorce est sombre, de couleur brune, relativement lisse, et fissurée. Les fleurs (C) sont blanches avec rayures pourpres et sont

caractérisées par la présence d'un parfum typique. Les fruits ou baies sont jaunes, ronds, lisses et charnus. Les fruits secs contiennent 4 à 5 graines (D) [20,39].

La maturation a lieu à partir du mois de février jusqu'au mois de mai. Les fruits mûrs peuvent rester longtemps sur l'arbre. Ils sont globuleux comme de petites boucles ocre portées par des grappes pendantes (Figure 3). Ce fruit est une drupe jaune suspendue sur l'arbre tout l'hiver en devenant de plus en plus ridée et presque blanche. Le noyau de la drupe est blanc et strié dans le sens de la longueur, il contient quatre petites graines ressemblant à des grains de riz noir. Les graines de *Melia* contiennent approximativement 40 % d'huile[40]

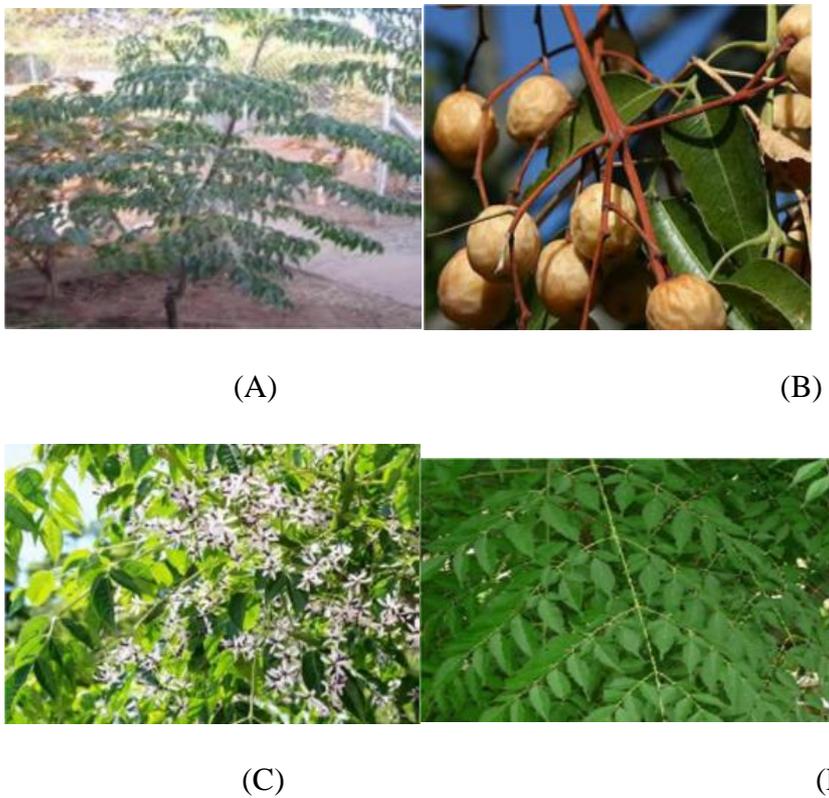


Figure 3 : Parties de *Melia azedarach* (A) tige de (B) fruit (C) fleurs (D) feuilles

2.4. Composition chimique de la plante

La composition chimique (voir Tableaux 3 et 4) et la quantité des composés biologiques actifs de *Melia azedarach* varient selon : l'environnement [41] et la méthode d'extraction [42].

Tableau 3. Analyses chimiques (moyenne \pm écart-type) des feuilles de *Melia azedarach* [41]

Analyses (%)	Feuille	
	Juvénile	Mûre
Cendres	13,14 \pm 0,02	11,92 \pm 0,47
Protéines	6,60 \pm 0,32	6,10 \pm 0,28
Lipides	2,80 \pm 0,08	1,08 \pm 0,10
Fibres crues	10,94 \pm 0,33	10,33 \pm 0,39
Extractif de non- nitrogène	66,52 \pm 0,75	70,57 \pm 1,24

Tableau 4. Acides gras contenus dans l'huile de *Melia azedarach* d'Argentine [43]

Composant	Quantité relative (%)
Acide myristique	0,062
Acide palmitique	7,545
Acide palmitoléique	0,089
Acide stéarique	3,032
Acide oléique	17,571
Acide linoléique	71,287
Acide linoléique	0,414

3. Composés phénoliques

3.1. Définition

Les composés phénoliques sont des produits du métabolisme secondaire le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et

animale [44]. Ces composés sont présents dans toutes les parties des plantes, mais avec une répartition quantitative qui varie entre les différents tissus. Plus de 8000 structures ont été identifiées [45], allant de simples molécules comme les acides phénoliques à des substances hautement polymérisées comme les tanins [46].

Ils sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés avec d'autres fonctions (éther, ester, hétéroside), avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols[41,46].

Ces différenciations structurales contribuent à l'extension de leurs spectres d'activité dans les différents domaines fondamentaux et appliqués liés aux plantes ou aux activités humaines à des fins diététiques et thérapeutiques mais aussi à l'échelle du laboratoire de recherche puis la production industrielle [47].

3.2.Acides phénoliques

Les acides phénoliques dérivés de l'acide benzoïque sont des dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque comme l'acide vanillique. Les acides phénoliques dérivés de l'acide cinnamique ont une distribution très large [48].

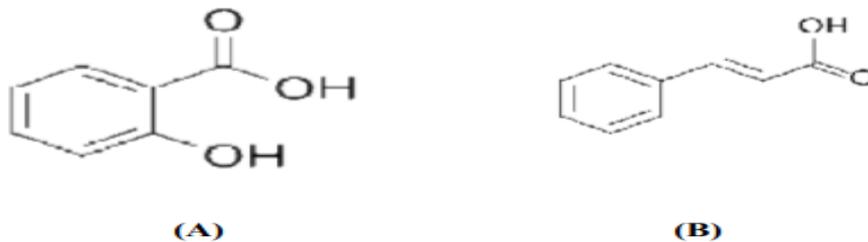


Figure 4 : Structures de base d'acide hydroxybenzoïque (A) et Structures de base d'acides hydroxycinnamiques (B)

3.3.Flavonoïdes

Les flavonoïdes (du latin flavus, jaune) est le groupe le plus répandu des composés phénoliques dans le règne végétal, plus de 5000 composés ont été décrits. Ils ont un squelette de base de quinze atomes de carbones qui sont arrangés à une configuration C6-C3-C6, constitués de 2 cycles aromatiques A et B reliés par une chaîne en C3 qui forme un hétérocycle oxygéné C. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires,

étant impliqués dans les processus de défense contre les UV, la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies[49] .

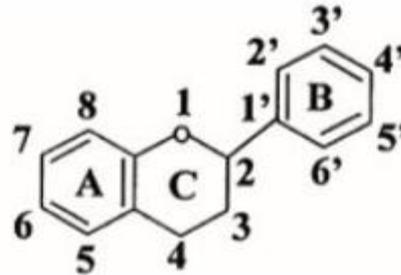


Figure 5 : Structure de base des flavonoïdes

3.4.Tannins

Cette classe désigne le nom général descriptif du groupe des substances phénoliques polymériques, ayant une masse moléculaire comprise entre 500 et 3000 qui présente, à côté des réactions classiques des phénols, la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et d'autres protéines [50]. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines. Les tannins sont subdivisés en deux classes différentes, largement distribuées chez les végétaux supérieurs, qui sont les tannins hydrolysables et les tannins condensés[50] .

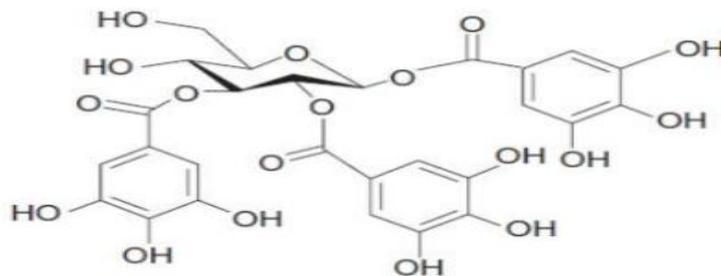


Figure 6 : Structures de base des Tanins condensés

4. La tension superficielle

La pulpe du fruit de *Melia azedarach* est connue comme ayant des propriétés détersives dans certaines régions d'Algérie. A cet effet, nous nous sommes intéressés à l'étude de la tension superficielle (tension interfaciale) des extraits de la pulpe en fonction de certains paramètres, dont la concentration de la solution en alcool (0%, 20 % et 50 %), le

rapport liquide-solide, la température, le temps de contact, le mode d'agitation. Ces extraits peuvent abaisser la tension superficielle peuvent contenir des tensioactifs.

Les tensioactifs sont constitués de molécules *amphiphiles*, c'est-à-dire munies d'un pôle hydrophile et d'une longue chaîne hydrophobe. Lorsqu'un tensioactif est ajouté à de l'eau il vient se placer immédiatement à la surface, avec la queue hydrophobe pointant à l'extérieur de la surface. Ce processus s'accompagne d'une stabilisation de la surface et donc d'une chute de la tension superficielle. Ce n'est qu'une fois la surface saturée, et n'offrant plus d'espace disponible à de nouvelles molécules amphiphiles, que les tensioactifs vont former des structures organisées au sein du liquide : ce sont les micelles. Les micelles sont des structures sphériques ou ellipsoïdales dont la surface est constituée des têtes hydrophiles des tensioactifs, alors que les queues hydrophobes de ces derniers sont regroupées à l'intérieur. L'effet nettoyant des tensioactifs découle du fait que les substances hydrophobes, telles que les matières grasses, peuvent être contenues à l'intérieur des micelles. La concentration de tensioactifs au-dessus de laquelle les micelles commencent à se former est connue comme la concentration micellaire critique (CMC). Les extraits peuvent contenir des saponines stéroïdes qui sont des tensioactifs naturels qui peuvent dissoudre des microbes et soulager l'inflammation.

Il est bien connu que des forces d'attraction à courte portée existent entre les molécules et sont responsables de l'existence de l'état liquide. Les phénomènes de tension superficielle et interfaciale s'expliquent facilement en termes de ces forces. Les molécules situées dans la masse d'un liquide sont, en moyenne, soumises à des forces d'attraction égales dans toutes les directions, tandis que celles situées, par exemple, à une interface liquide-air, subissent des forces d'attraction déséquilibrées, ce qui entraîne une traction nette vers l'intérieur.

Un maximum de molécules quittera la surface du liquide pour se rendre à l'intérieur du liquide ; la surface aura donc tendance à se contracter spontanément. Pour cette raison, les gouttelettes de liquide et les bulles de gaz ont tendance à prendre une forme sphérique. La tension superficielle (et la quantité plus fondamentale, l'énergie libre de surface) joue un rôle exceptionnel dans la chimie physique des surfaces [51].

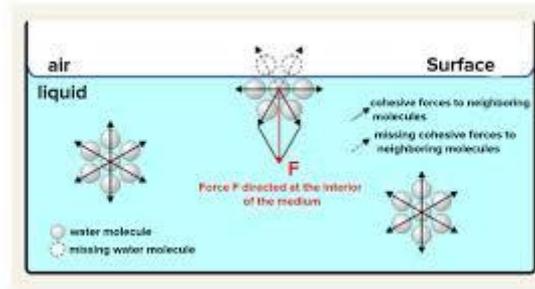


Figure 7 : Les forces d'attraction entre les molécules à la surface et à l'intérieur du liquide

La tension superficielle γ_0 d'un liquide est souvent définie comme la force agissant perpendiculairement à toute ligne d'unité de longueur sur la surface du liquide. Cependant, cette définition (bien qu'appropriée dans le cas de films liquides, comme dans les mousses) est quelque peu trompeuse, puisqu'il n'y a pas de peau élastique ou de force tangentielle en tant que telle à la surface d'un liquide pur. Il est plus satisfaisant de définir la tension superficielle et l'énergie libre de surface comme le travail nécessaire pour augmenter la surface d'une surface isotherme et réversible par quantité unitaire.

Il n'y a pas de distinction fondamentale entre les termes surface et interface, bien qu'il soit d'usage de décrire la frontière entre deux phases dont l'une est gazeuse en surface et la frontière entre deux phases non gazeuses comme interface.

A l'interface entre deux liquides il y a encore un déséquilibre des forces intermoléculaires mais d'une moindre ampleur. Les tensions interfaciales se situent généralement entre les tensions superficielles individuelles des deux liquides en question[51].

4.1.Mesure des tensions superficielles

Il est à plusieurs méthodes disponibles pour la mesure des tensions superficielles peuvent être classées comme statiques, par détachement et dynamiques, cette dernière étant utilisée pour étudier des effets temporels relativement courts [51].

4.1.1. Méthodes sur plaque Wilhelmy

Une fine plaque de mica ou une lame de microscope est suspendue au bras d'une balance et plonge dans le liquide, comme le montre la Figure 8.

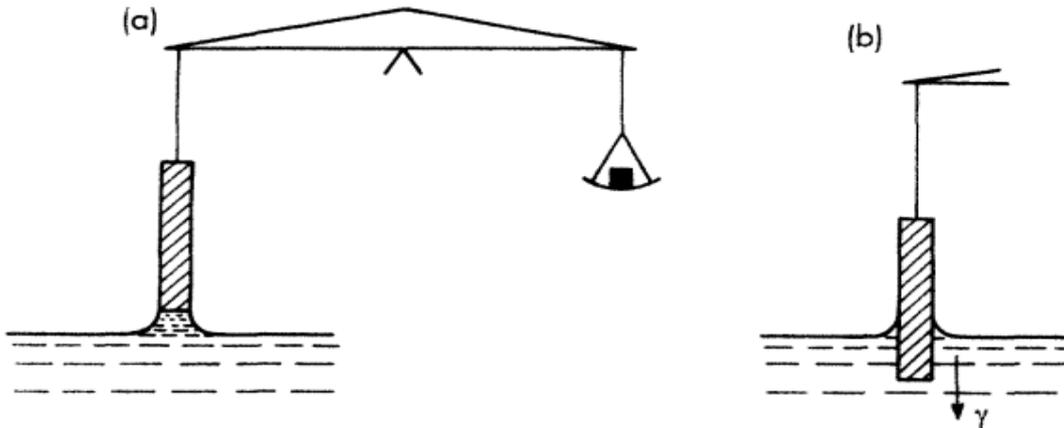


Figure 8 : Tensiomètre à plaque de Wilhemy: (a) détachement ; (b) statique

Lorsqu'il est utilisé comme méthode de détachement (Figure 8 a), le récipient contenant le liquide est progressivement abaissé et la traction sur la balance au point de détachement est notée. Pour une plaque de longueur x , de largeur y et de poids W , en supposant un angle de contact nul,

$$W_{\text{det}} - W = 2 * (x + y) \gamma$$

La méthode des plaques peut également être utilisée comme méthode statique (Figure 8 b) pour mesurer les changements de tension superficielle. La variation de la force nécessaire pour maintenir la plaque à une immersion constante à mesure que la tension superficielle change est mesurée.

4.1.2. Méthode de l'anneau (ring method)

Dans cette méthode, la force nécessaire pour détacher un anneau d'une surface ou d'une interface est mesurée soit en suspendant l'anneau au bras d'une balance, soit en utilisant un dispositif à fil de torsion (tensiomètre du Noüy).

La force de détachement est liée à la tension superficielle ou interfaciale

par l'expression $\gamma = \frac{F}{4 \pi R}$ où F est la force mesurée nécessaire pour détacher l'anneau, R est le rayon moyen de l'anneau.

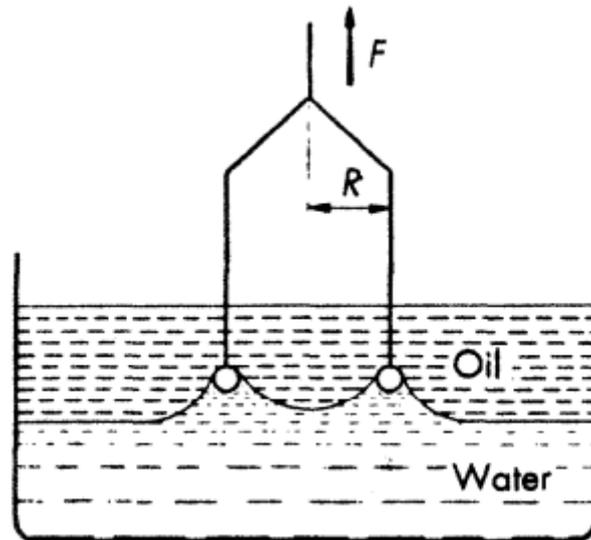


Figure 9 : Méthode de l'anneau

4.1.3. Méthodes de volume de goutte et de poids de goutte

Les gouttes d'un liquide peuvent se détacher lentement de l'extrémité d'un tube étroit monté verticalement (Figure 10) et soit elles sont pesées, soit leur volume est mesuré. Au point de détachement.

$$\gamma = \frac{\phi m g}{2 \pi r} = \frac{\phi V \rho g}{2 \pi r}$$

où m est la masse de la goutte, V est le volume de la goutte, ρ est la densité du liquide, r est le rayon du tube et ϕ est un facteur de correction.

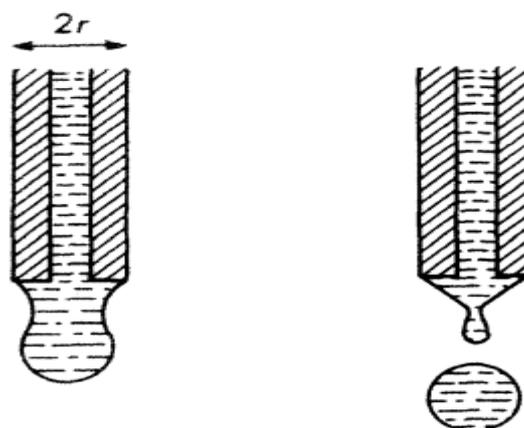


Figure 10 : Détachement d'une gouttelette de l'extrémité d'un tube

4.1.4. Méthode stalagmométrique

La stalagmométrie est une méthode de détermination de la tension superficielle d'un liquide inconnu, par comparaison avec un liquide de référence. Cette méthode s'appuie sur le comptage des gouttes d'un liquide qui s'écoule du stalagmomètre. Elle est utilisée dans ce travail pour sa simplicité et sa rapidité.

$$\gamma = \frac{\gamma_0 * m}{m_0}$$

5. La turbidité

Nous avons également étudié la turbidité en fonction des conditions opératoires dont la concentration alcoolique, la température afin de savoir leur influence sur la solubilité des principes actifs d'extrait et par conséquent, leur concentration dans les extraits et leurs propriétés bioactives.

La turbidité est une mesure du degré de perte de clarté de l'eau, causée par les particules en suspension qui diffusent ou absorbent la lumière traversant l'échantillon. Plus l'échantillon contient de particules en suspension, plus elle paraît trouble et plus la turbidité est élevée. Elle dépend aussi de la dimension des particules qui influencent la diffusion ou l'absorption de la lumière. La turbidité est considérée comme un paramètre indicateur qui offre rapidement des informations précieuses sur la qualité de l'échantillon. En tant que paramètre cumulatif, les données de turbidité sont très corrélées à la composition de l'échantillon, ce qui permet de détecter toutes sortes de matières en suspension telles que des sédiments, minéraux ou microorganismes. La turbidité peut être mesurée avec des instruments en ligne, de paillasse ou portables, ou avec des tubes de turbidité[B] .

5.1. Mesure de turbidité

La turbidité est aujourd'hui principalement mesurée à l'aide des instruments de mesure optoélectroniques. Une source de lumière artificielle transmet une intensité lumineuse connue à travers un échantillon. Les particules en suspension dans l'échantillon diffusent ou absorbent la lumière. L'intensité de la lumière diffusée ou absorbée est alors déterminée par un photodétecteur qui la met en corrélation avec la turbidité.

Les valeurs de turbidité sont généralement exprimées en NTU (unités de turbidité néphéométriques) ou en FNU (unités de forme néphéométriques). Elles se réfèrent à la méthode et à la norme utilisée pour l'appareil [B].

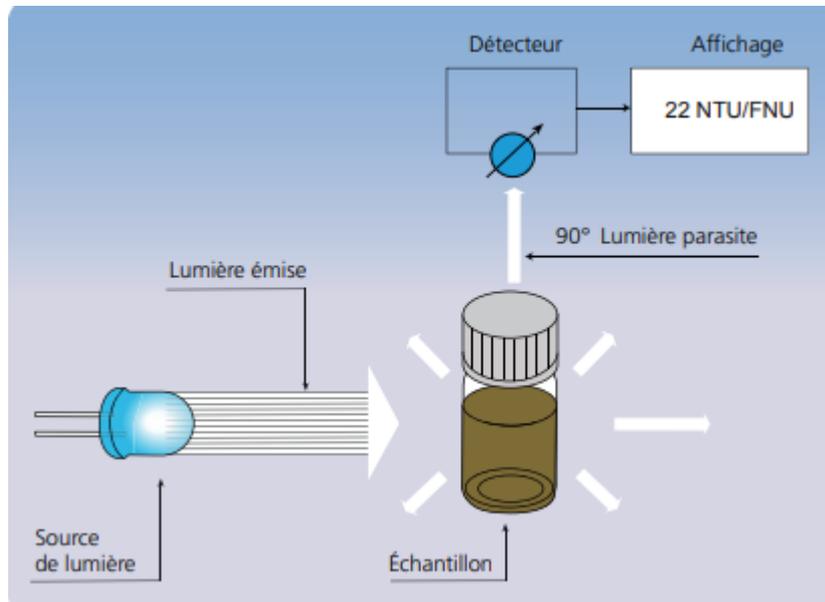


Figure 11 : Mesure de la turbidité [B]

6. Influence de l'agitation sur l'extraction

L'agitation joue un rôle crucial dans le processus d'extraction, que ce soit pour l'extraction de composés dans les industries alimentaires, pharmaceutiques, chimiques ou autres. Voici comment l'agitation influence ce processus :

6.1. Augmentation du transfert de masse

L'agitation augmente le taux de transfert de masse entre les phases impliquées dans l'extraction. En agitant le mélange, on facilite le contact entre le solvant extractant et la substance à extraire, ce qui permet une extraction plus rapide et plus efficace.

6.2. Homogénéisation du mélange

Elle permet d'homogénéiser le mélange, assurant que la concentration du solvant reste uniforme à travers tout le volume. Ceci est particulièrement important pour éviter les zones de saturation locale qui peuvent ralentir l'extraction.

6.3. Réduction de la couche limite

L'agitation réduit l'épaisseur de la couche limite statique près de la surface des particules ou des gouttes. Cette couche limite agit comme une barrière au transfert de masse, et en la réduisant, l'agitation facilite le passage des molécules du soluté vers le solvant.

6.4. Prévention de la formation des dépôts

Elle empêche la formation de dépôts de particules ou de cristaux à la surface des équipements, ce qui pourrait autrement ralentir le processus d'extraction et réduire son efficacité.

6.5. Amélioration de la dissolution des substances solides

Pour les substances solides, l'agitation aide à maintenir les particules en suspension, augmentant la surface de contact avec le solvant et facilitant leur dissolution.

6.6. Contrôle de la température

L'agitation contribue à une meilleure distribution de la chaleur dans le mélange, ce qui peut être crucial dans des processus où la température influence la solubilité ou la réaction chimique impliquée dans l'extraction.

6.7. Formation d'émulsion

Dans certains cas, l'agitation peut aider à la formation d'émulsions, qui augmentent la surface de contact entre les phases non miscibles (par exemple, eau et huile), améliorant ainsi l'efficacité de l'extraction de composés hydrophobes.

Chapitre 2 : Partie expérimentale

7. Matériel et méthodes

7.1. Matériel végétal

Avant de commencer processus d'extraction, le fruit de mélia subit une étape préalable au cours de laquelle sa peau est retirée. Cette étape est essentielle pour faciliter l'extraction des substances bioactives à partir des fruits de la plante étudiée.

7.2. Méthodes de mesure

7.2.1. Tension superficielle

La tension superficielle des extraits de fruit de *Melia azedarach* a été déterminée comme mentionné plus haut par la méthode stalagmométrique .

7.2.2. Turbidité

La mesure de la turbidité a été effectuée à l'aide d'un turbidimètre type HI88713.

8. Effet des conditions d'extraction sur tension superficielle et turbidité

Comme l'extraction des composés bioactifs est influencée par la méthode d'extraction utilisée, il est utile d'étudier l'influence des paramètres tels que le rapport volume de solution-masse de fruit, le temps et la température d'extraction, la concentration de solvant sur les propriétés choisies, en l'occurrence, la tension superficielle et la turbidité.

8.1. Concentration de solvant

Le solvant utilisé pour l'extraction est l'éthanol, à différentes concentrations, c'est-à-dire, 0% 20% et 50%.

Le rapport volume de solution, le temps de contact, la température ont été fixés comme suit :

8.2. Rapport masse de fruit-volume de solution

Le domaine de variation de ce rapport est 1g :10 mL, 1g : 20 mL et 1g :40mL tout en fixant les autres paramètres.

8.3. Température

Le domaine de variation de température est de : 20, 40 puis 60°C, en fixant les autres paramètres.

8.4. Temps

Le domaine de variation de temps est 24, 48 puis 72 heures, en fixant les autres paramètres.

8.5. Mode d'agitation

Les deux modes adoptés sont l'agitation magnétique et l'agitation à l'air.

Les facteurs étudiés accompagnés de leur domaine de variation sont donnés dans le Tableau 4 ci-dessous.

Tableau 5. Domaines de variation des paramètres

Variable	Niveau	Centre	Niveau
Concentration en alcool (%)	0	20	50
Rapport solide-liquide (g/mL)	1 :10	1 :20	1 :40
Température (°C)	20	40	60
Temps (heure)	24	48	72
Mode d'agitation	Agitation magnétique	Agitation à air	

8.6. Influence des paramètres

8.6.1. Effet de la concentration alcoolique et du rapport solide-liquide sur la tension superficielle

La Figure 12 dépeint la variation de la tension superficielle des extraits de fruit de *Melia azedarach* en fonction de la concentration alcoolique pour les conditions suivantes : température 60 °C, temps de contact : 24 h, agitation magnétique. On remarque pour la concentration nulle, c'est-à-dire, pour la solution composée uniquement d'eau distillée, la tension superficielle de l'extrait diminue en fonction du rapport solide-liquide (1 :10 ; 1 :20 et 1 :40 g/mL), indiquant ainsi les propriétés tensioactives de l'extrait. Cette diminution est plus prononcée lorsqu'on augmente la concentration à 20% puis 50% pour les trois rapports liquide-solide étudiés. On peut dire que pour ces résultats préliminaires, l'alcool éthylique contribue davantage à l'extraction des substances tensioactives et à la diminution de la tension superficielle.

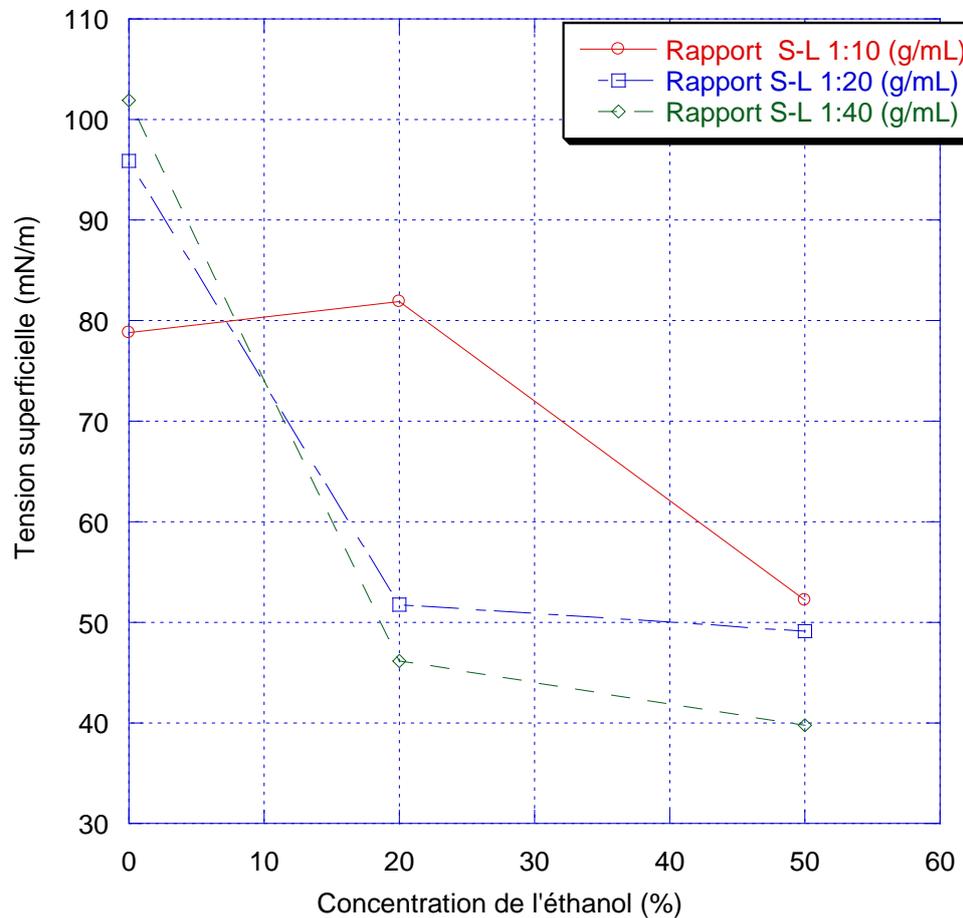


Figure 12 : Effet de la concentration alcoolique sur la tension superficielle du filtrat ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, temps de contact : 24 h, agitation magnétique)

8.6.2. Effet de la concentration alcoolique et du rapport solide-liquide sur la turbidité

L'effet de la concentration et du rapport solide-liquide sur la turbidité de l'extrait a été étudié dans les mêmes conditions. La Figure 13 montre la variation de la turbidité de l'extrait en fonction de la concentration alcoolique pour les trois rapports solide-liquide. En l'absence de l'alcool dans la solution (concentration 0%), on constate que la turbidité diminue en variant le rapport de 1 :10 à 1 :40 g/mL du fait de la dilution de l'extrait, contribuant à moins de turbidité. Pour le rapport 1 :10 g/mL, l'influence de l'alcool est faible. Par contre, pour les

rappports 1 :20 et 1 :40 g/mL, on constate une augmentation de la turbidité pour les solutions de concentration 20 et 50 % en alcool. Cette augmentation de la turbidité signifie que davantage de substances bioactives sont extraites.

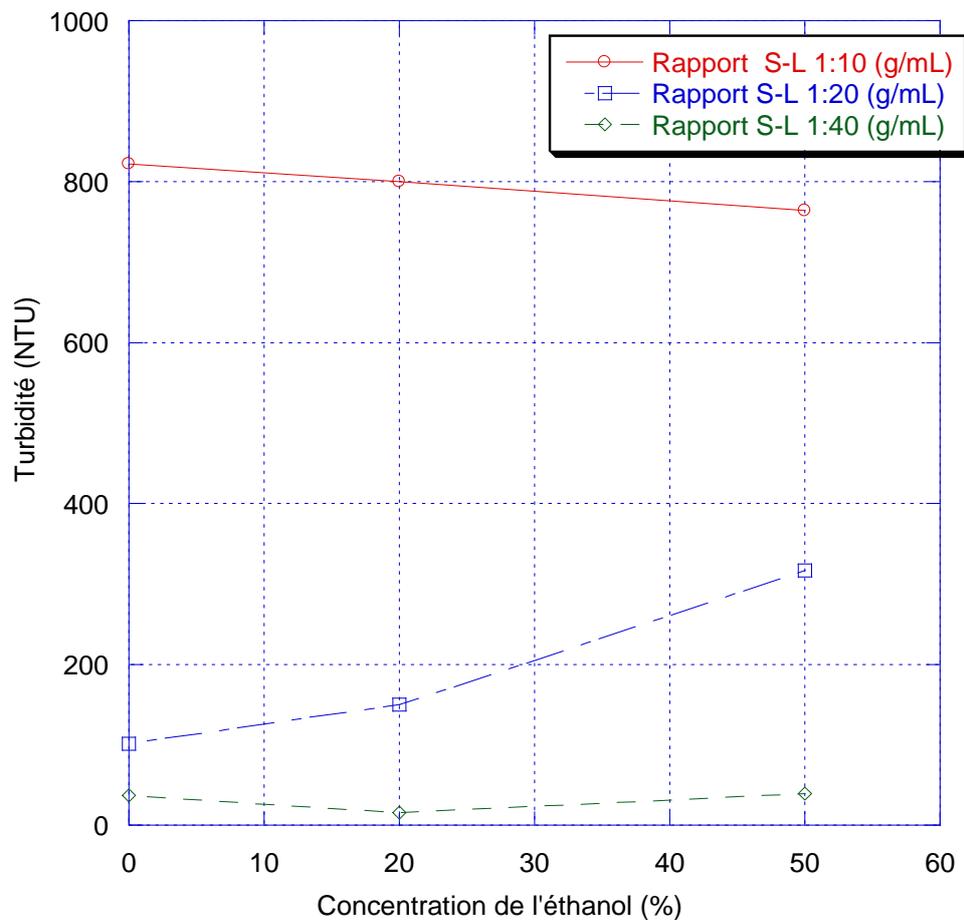


Figure 13 : Effet de la concentration alcoolique sur la turbidité de l'extrait ($T = 60\text{ }^{\circ}\text{C}$, temps de contact : 24 h, agitation magnétique)

8.6.3. Effet de la température et du rapport solide-liquide sur la tension superficielle

La Figure 14 montre les résultats de la tension superficielle obtenus en variant la température et le rapport solide-liquide pour la concentration en alcool nulle (eau distillée seule). Pour 20 °C, la tension superficielle diminue comme prévu en augmentant le rapport solide-liquide de 1:40 à 1:10 g/mL car la concentration en substances tensioactives varie en fonction de ce rapport. Elle est plus importante pour le rapport 1:10. La tension superficielle diminue également avec la température pour les trois rapports. Cependant, pour 60 °C, on constate une légère augmentation de la tension superficielle par rapport à 20 et 40 °C. Une étude plus poussée doit être entreprise en ce sens pour étudier davantage l'effet de la température.

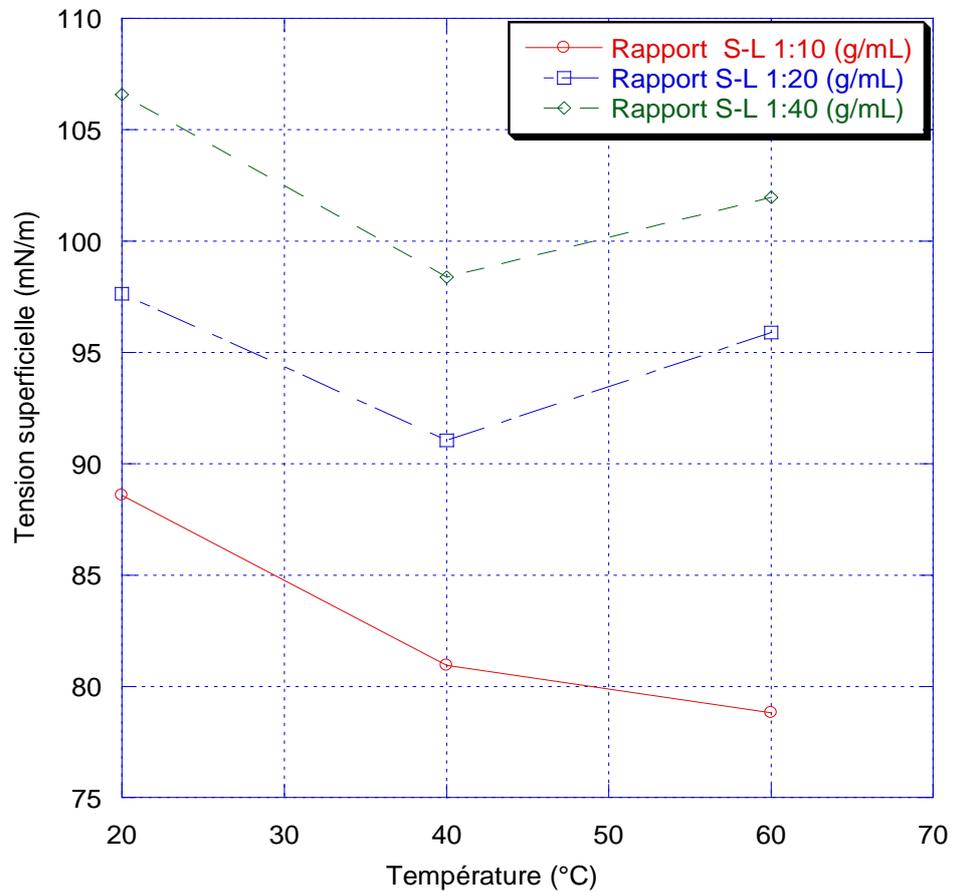


Figure 14 : Effet de la température sur la tension superficielle (temps de contact : 24 h, agitation magnétique, concentration alcoolique : 0%)

8.6.4. Effet de la température et du rapport solide-liquide sur la turbidité

On constate sur la Figure 15 que pour le rapport solide-liquide 1 :10 g/mL, la turbidité est plus élevée que pour le rapport 1 : 40 g/mL. Pour le rapport 1 :20 g/mL, l'observation n'est pas confirmée. La variation de la température de 40 à 60 °C a tendance à diminuer la turbidité pour les rapports 1 : 10 et 1 :20 g/mL.

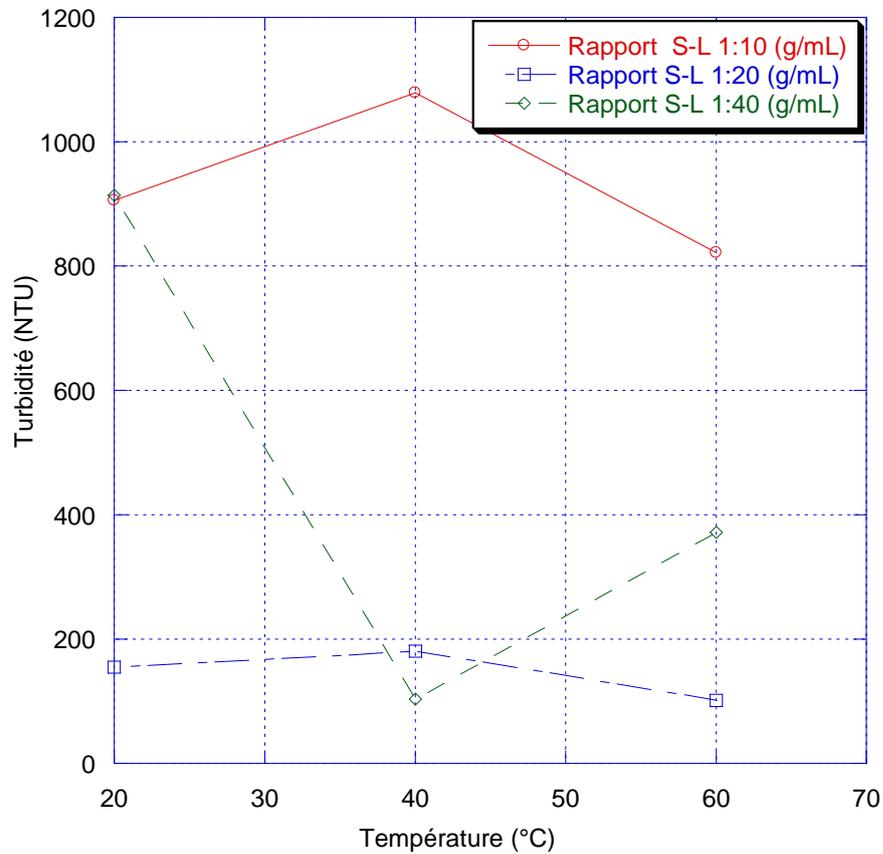


Figure 15 : Effet de la température sur la turbidité (temps de contact : 24 h, agitation magnétique, concentration alcoolique : 0%)

8.6.5. Effet du temps de contact sur la tension superficielle

Les données de l'effet du temps de contact pour les rapports solide-liquide étudiés sur la tension superficielle (conditions : température : 60 °C, concentration alcoolique : 0% et agitation magnétique) sont illustrées sur la Figure 16. Pour les trois rapports solide-liquide étudiés, la tension superficielle diminue avec le temps de contact (24 h, 48 h puis 72 h). Un temps de contact pulpe de fruit-eau prolongé permet d'extraire davantage les substances bioactives et tensioactives et d'augmenter l'efficacité d'extraction.

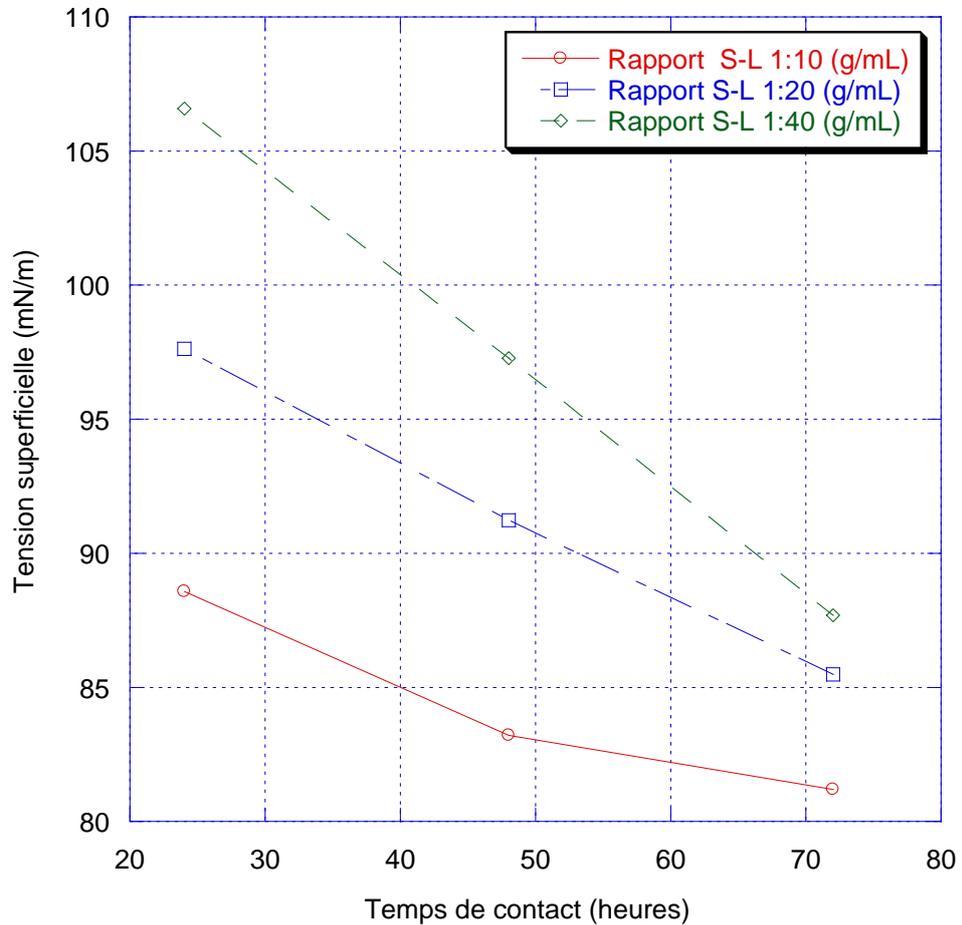


Figure 16 : Effet du temps de contact sur la tension superficielle (Température 60 °C, concentration alcoolique 0%, agitation magnétique)

8.6.6. Effet du temps de contact sur la turbidité

D'après la Figure 17, la turbidité, pour les conditions : température 60 °C, concentration alcoolique 0% et mode d'agitation magnétique, augmente légèrement avec le temps de contact de 24 h à 48 h puis diminue de 48 h à 72 h pour les trois rapports solide-liquide. On peut dire que la variation de la turbidité avec le temps n'est pas très importante en

observant qu'elle est la plus élevée pour le rapport solide-liquide 1 :10 et qu'elle est la plus faible pour le rapport 1 :20.

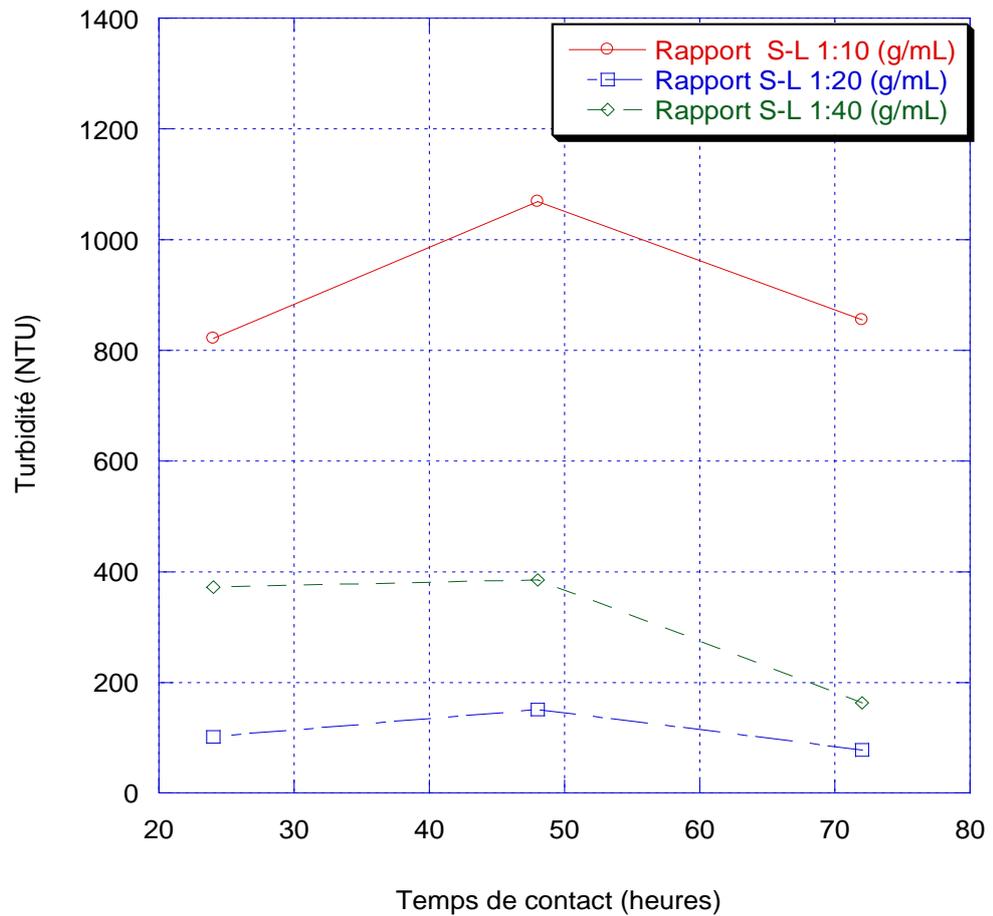


Figure 17 : Effet du temps de contact sur la turbidité (température 60 °C, concentration alcoolique 0%, agitation magnétique)

8.6.7. Effet du mode d'agitation sur la tension superficielle et la turbidité

La Figure 18 montre l'effet du mode d'agitation, à savoir, magnétique ou à l'air sur les propriétés étudiées pour les conditions : concentration en alcool 0%, temps d'agitation : 24 h, rapport solide-liquide : 1 : 20 g/mL en fonction de la température. On peut observer

que pour la tension superficielle, le mode d'agitation influe peu. Par contre, la turbidité est fortement influencée par le mode d'agitation où on observe une plus grande turbidité lorsque la solution est agitée par l'air. Ceci peut être expliqué par le fait que l'introduction de l'air dans la solution crée un effet de mousse qui peut diffuser la lumière et provoquer l'augmentation de la turbidité. Une analyse de la solution permettra de comprendre l'influence de l'air sur les particules et substances présentes dans la solution.

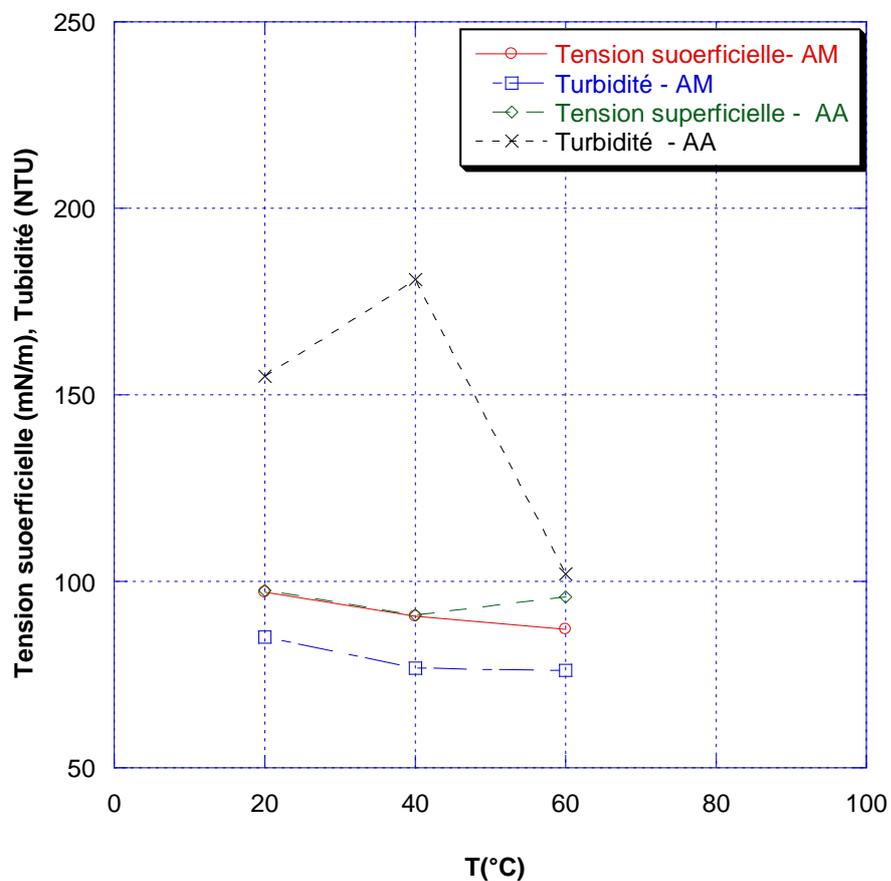


Figure 18 : Effet du mode d'agitation magnétique (AM) et à l'air (AA) sur la tension superficielle et la turbidité des extraits de pulpe de la plante *Melia azedarach* – pour les conditions : Concentration en alcool 0%, temps d'agitation : 24 h , rapport liquide-solide 1 : 20 g/mL

Conclusion générale

Ce travail a concerné l'étude d'un procédé d'extraction par solvant de substances bioactives à partir du fruit de la plante *Melia azedarach* qui est une espèce d'arbre à feuilles caduques et persistantes poussant sur le pourtour méditerranéen, entre autres régions. Le fruit de *Melia azedarach* est un antiseptique et contient beaucoup d'acides gras dont l'acide stéarique.

L'influence de certains paramètres d'intérêt sur la tension superficielle et la turbidité des extraits de ce fruit qui peuvent contenir des substances bioactives a été étudiée. Les paramètres étudiés incluent la concentration d'éthanol (0%, 20%, 50%), la température (20°C, 40°C, 60°C), le temps d'extraction (24 h, 48 h, 72 h), le rapport solide-liquide (1g/10 mL, 1g/20 mL, 1g/40 mL), et le mode d'agitation (magnétique et à l'air).

Les principales conclusions qui peuvent être tirées de ce travail sont les suivantes :

1. Pour la solution composée uniquement d'eau distillée, la tension superficielle de l'extrait diminue en fonction du rapport solide-liquide (1 :10, 1 :20 puis 1 :40 g/mL), ce qui montre que le fruit contient des substances tensioactives que l'eau seule arrive à extraire.

2. Cette diminution est plus prononcée lorsqu'on augmente la concentration de l'alcool à 20% puis 50% pour les trois rapports liquide-solide étudiés.

3. La turbidité diminue en variant le rapport de 1 :10 à 1 : 40 g/mL.

4. La tension superficielle diminue en général avec la température pour les trois rapports solide-liquide étudiés.

5. La tension superficielle diminue avec le temps de contact (24 h, 48 h puis 72 h). Un temps de contact pulpe de fruit-eau prolongé permet d'extraire davantage les substances bioactives et tensioactives et d'augmenter l'efficacité d'extraction.

6. Pour la tension superficielle, le mode d'agitation influe peu.

7. La turbidité est fortement influencée par le mode d'agitation où on observe une plus grande turbidité lorsque la solution est agitée par l'air.

Cette étude montre que le fruit de la plante *Melia azedarach* contient des substances tensioactives qui peuvent être utilisées à bon escient dans le domaine de la détergence et de la lutte antimicrobienne et antivirale.

Références

1. Bahorun, T. (1998, March). Substances naturelles actives: la flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. In *Second Annual Meeting of Agricultural Scientists* (Vol. 83, pp. 83-94).
2. Rowland, I. (1999). Optimal nutrition: fibre and phytochemicals. *Proceedings of the nutrition Society*, 58(2), 415-419.
3. Treutter, D. (2006). Significance of flavonoids in plant resistance: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 4(3), 147-157.
4. Barakat, N., Makris, D. P., Kefalas, P., & Psillakis, E. (2010). Removal of olive mill waste water phenolics using a crude peroxidase extract from onion by-products. *Environmental Chemistry Letters*, 8, 271-275.
5. Sanchez, V., Baeza, R., Galmarini, M. V., Zamora, M. C., & Chirife, J. (2013). Freeze-drying encapsulation of red wine polyphenols in an amorphous matrix of maltodextrin. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 1350-1354.
6. Xiao, H., Lin, Q., Liu, G. Q., Wu, Y., Wu, W., & Fu, X. (2013). Inhibitory effects of green tea polyphenols on the retrogradation of starches from different botanical sources. *Food and Bioprocess Technology*, 6, 2177-2181.
7. Roman, G. C., Jackson, R. E., Gadhia, R., Román, A. N., & Reis, J. (2019). Mediterranean diet: The role of long-chain ω -3 fatty acids in fish; polyphenols in fruits, vegetables, cereals, coffee, tea, cacao and wine; probiotics and vitamins in prevention of stroke, age-related cognitive decline, and Alzheimer disease. *Revue neurologique*, 175(10), 724-741.
8. Maciel, M. V., Morais, S. M., Bevilaqua, C. M. L., Camurça-Vasconcelos, A. L. F., Costa, C. T. C., & Castro, C. M. S. (2006). Ovicidal and larvicidal activity of *Melia azedarach* extracts on *Haemonchus contortus*. *Veterinary parasitology*, 140(1-2), 98-104.
9. Handa, S. S., Khanuja, S. P. S., Longo, G., & Rakesh, D. D. (2008). Extraction technologies for medicinal and aromatic plants. United Nations Industrial Development Organization.
10. Dhanani, T., Shah, S., Gajbhiye, N. A., & Kumar, S. (2017). Effect of extraction methods on yield, phytochemical constituents and antioxidant activity of *Withania somnifera*. *Arabian journal of chemistry*, 10, S1193-S1199.
11. Naczki, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
12. Chettir, A. E. *Effet de la force ionique sur l'extraction liquide liquide du nickel par D2EHPA* (Master's thesis).
13. Adam, J. A., Booth, E., & Strickland, J. D. H. (1952). The determination of microgram amounts of beryllium using acetyl acetone. *Analytica Chimica Acta*, 6, 462-471.

14. Fadhila B. Extraction et caractérisation électrophorétique des caéines du lait de vache collecté durant les saisons d'été et automne.
15. Trumel, C., Schelcher, F., Braun, J. P., & GUELF, J. (1996). L'électrophorèse des protéines sériques: principes d'interprétation chez le chien, le chat. *Revue Méd. Vét.*, 147(2), 123-130.
16. Delarras, C. (2007). *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire*. Éd. Tec & doc-Éd. médicales internationales, impr..
17. Batamuzi, E. K., Kristensen, F., & Jensen, A. L. (1996). Serum protein electrophoresis: potential test for use in geriatric companion animal health programmes. *Journal of Veterinary Medicine series A*, 43(1- 10), 501-508.
18. Séger, J., & Lucotte, G. (1981). *La pratique de l'électrophorèse appliquée à la détection des polymorphismes humains*. Masson.
19. Pasteur, N. (1987). *Manuel technique de génétique par électrophorèse des protéines*. Technique et documentation (Lavoisier).
20. ATIG, M. N. Etude comparative de l'électrophorèse sur gel et l'électrophorèse sur l'automate capillarys.
21. Bongrand, P. (1999). Ligand-receptor interactions. *Reports on progress in Physics*, 62(6), 921.
22. Sacchi, K. L., Bisson, L. F., & Adams, D. O. (2005). A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 56(3), 197-206.
23. Groubert, A. (1984). *techniques d'extraction végétale* (Doctoral dissertation).
24. Leybros, J., & Frémeaux, P. (1990). Extraction solide-liquide. I. Aspects théoriques. *Techniques de l'ingénieur. Génie des procédés*, 2, J2780-1.
25. Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., ... & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of food engineering*, 117(4), 426-436.
26. Draye, M., Malacria, M., Estager J., Olivier C., & Goddard, J. P. (2009). *Sonochimie organique*. Ed. Techniques Ingénieur.
27. Ben Amor, B. (2008). *Maîtrise de l'aptitude technologique de la matière végétale dans les opérations d'extraction de principes actifs: texturation par détente instantanée contrôlée (DIC)* (Doctoral dissertation, La Rochelle).
28. Ameer, K., Shahbaz, H. M., & Kwon, J. H. (2017). Green extraction methods for polyphenols from plant matrices and their byproducts: A review. *Comprehensive reviews in food science and food safety*, 16(2), 295-315.
29. Wang, L., & Weller, C. L. (2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17(6), 300-312.

30. Ramos, L., Kristenson, E. M., & Brinkman, U. T. (2002). Current use of pressurised liquid extraction and subcritical water extraction in environmental analysis. *Journal of Chromatography A*, 975(1), 3-29.
31. Richter, B. E., Jones, B. A., Ezzell, J. L., Porter, N. L., Avdalovic, N., & Pohl, C. (1996). Accelerated solvent extraction: a technique for sample preparation. *Analytical chemistry*, 68(6), 1033-1039.
32. King, J. W., & Grabiell, R. D. (2007). Isolation of polyphenolic compounds from fruits or vegetables utilizing sub-critical water extraction. *United States Department of Agriculture patents*, (7208181).
33. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826.
34. Michel, T. (2011). *Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophae rhamnoides)* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
35. Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of separation science*, 30(18), 3268-3295.
36. Bostyn, S., Chedeville, O., & Fauduet, H. (2019). *Génie chimique et des procédés-2e année: Procédés de séparation et de réaction*. Dunod.
37. Hajaniaina, O. (1996). Le faux neem (*Melia azedarach*) et son utilisation à Madagascar. *Document du Projet DPV/GTZ, "Promotion de la protection intégrés des cultures et des denrées stockées à Madagascar*, 157-163.
38. Timbo, B. (2004). Etude phytochimique et des activités biologiques de *Trichilia emetica* Vahl (Meliaceae).
39. Ramya, S., Jepachanderamohan, P. J., Kalayanasundaram, M., & Jayakumararaj, R. (2009). In vitro antibacterial prospective of crude leaf extracts of *Melia azedarach* Linn. against selected bacterial strains. *Ethnobotanical Leaflets*, 2009(1), 32.
40. Schmutterer, H. (1995). The neem tree. VCH Verlagsgesellschaft mbH.
41. Chiffelle, I., Huerta Fuentes, A., & Lizana Rojas, D. (2009). Physical and chemical characterization of *Melia azedarach* L. fruit and leaf for use as botanical insecticide. *Chilean Journal of Agricultural Research*.
42. Jazzar, C., & Hammad, E. A. F. (2003). The efficacy of enhanced aqueous extracts of *Melia azedarach* leaves and fruits integrated with the *Camptotylus reuteri* releases against the sweetpotato whitefly nymphs. *Bulletin of Insectology*, 56, 269-276.
43. Carpinella, M. C., Miranda, M., Almirón, W. R., Ferrayoli, C. G., Almeida, F. L., & Palacios, S. M. (2007). In vitro pediculicidal and ovicidal activity of an extract and oil from fruits of *Melia azedarach* L. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 56(2), 250-256.

44. Martin, S., & Andriantsitohaina, R. (2002, December). Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie* (Vol. 51, No. 6, pp. 304-315). Elsevier Masson.
45. Waksmundzka-Hajnos, M., & Sherma, J. (Eds.). (2010). *High performance liquid chromatography in phytochemical analysis*. CRC press.
46. Dai, J., & Mumper, R. J. (2010). Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. *Molecules*, 15(10), 7313-7352.
47. Stoclet, J. C., Chataigneau, T., Ndiaye, M., Oak, M. H., El Bedoui, J., Chataigneau, M., & Schini-Kerth, V. B. (2004). Vascular protection by dietary polyphenols. *European journal of pharmacology*, 500(1-3), 299-313.
48. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American journal of clinical nutrition*, 79(5), 727-747.
49. Chira, K., Suh, J. H., Saucier, C., & Teissède, P. L. (2008). Les polyphénols du raisin. *Phytothérapie*, 6(2), 75-82.
50. Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: possible modes of action. *Journal of natural products*, 59(2), 205-215.
51. Shaw, D. J. (1992). *Introduction to colloid and surface chemistry* (4th ed., pp. 70-74). Butterworth-Heinemann.

Sites web consultés

- A. Memoire Online [Internet]. [cité 27 mai 2024]. Memoire Online - Etude comparative de l'électrophorèse sur gel et l'électrophorèse sur l'automate capillarys - Mohamed Nabil ATIG. Disponible sur:
https://www.memoireonline.com/04/14/8834/m_Etude-comparative-de-l-electrophorese-sur-gel-et-l-electrophorese-sur-l-automate-capillarys17.html
- B. turbidity_analysis_brochure_fr.pdf [Internet]. [cité 6 avr 2024]. Disponible sur:
https://www.lovibond.com/ix_pim_assets/Wasseranalytik/Downloads/Broschueren/Turbidity_Measurement/turbidity_analysis_brochure_fr.pdf

Concentration (%)	Rapport s-l g :mL	Température (°C)	Temps (h)	Agitation	Tension sup (mN/m).	Turbidité (NTU)
0	0,1	60	24	g ma	78,825 2	822
0	0,05	60	24	g ma	95,889	102
0	0,025	60	24	g ma	101,97	37,2
20	0,1	60	24	g ma	81,939	800
20	0,05	60	24	g ma	51,813	150
20	0,1	60	24	g ma	84,119	791
50	0,1	60	24	g ma	52,259	764
50	0,05	60	24	g ma	49,169	317
50	0,025	60	24	g ma	39,81	39,3
0	0,1	40	24	g ma	80,943 5	1079
0	0,05	40	24	g ma	91,054 7	181
0	0,025	40	24	g ma	98,384 1	104
0	0,1	20	24	g ma	88,581	906
0	0,05	20	24	g ma	97,627	155
0	0,025	20	24	g ma	106,58 8	91,4
0	0,1	60	72	g ma	81,215	855
0	0,05	60	72	g ma	85,491	78,4
0	0,025	60	72	g ma	87,701	163
0	0,1	60	48	g ma	83,227 5	1069
0	0,05	60	48	g ma	91,238 2	151
0	0,025	60	48	g ma	97,275 6	38,5

0	0,05	60	24	air	87,213	76,2
0	0,05	40	24	air	90,729	76,8
0	0,05	20	24	air	97,175	85,2
0	0,1	60	24	air	76,019 1	817,0 1

Annexe