



Université Saad Dahleb de Blida  
Faculté de Science de la Nature et de la vie  
Département de Biotechnologie  
Option : Biotechnologie et Valorisation de Plantes

Mémoire de fin d'étude  
en vue d'obtention du diplôme  
Master 2

Thème

**Etude de quelques extraits de fruit de *Melia Azedarach*  
et évaluation de leur effet antibactérien et de leur toxicité**

Présenté par  
**AMARA Amina**

Devant le jury composé de :

<b>M. BENDALI A.</b>	MAA	Promoteur	USDB
<b>Mme. GHANAI R.</b>	MAA	Présidente	USDB
<b>M. ABBAD M.</b>	MCA	Examineur	USDB

## **Remerciement**

*Ce travail est l'aboutissement d'un dur labeur et de beaucoup de sacrifices ; nos remerciements vont d'abord au Créateur de l'univers qui nous a doté d'intelligence,*

*Je tiens également à exprimer ma gratitude à Mr BENDALI A. pour son encadrement, son orientation, ses conseils, sa paissance et la disponibilité qu'il nous a témoignée pour nous permettre de mener à bien ce travail.*

*Nos remerciements, nos reconnaissances vont aussi au responsable de laboratoire de recherche de biotechnologie.*

*Nous tenons à exprimer nos vifs remerciements à Mme GHANAI R. Professeur à l'Université de SAAD DAHLEB Blida qui a accepté de présider le jury de soutenance, Mr ABBED M. qui aussi accepté d'examiner notre travail Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements à tous les professeurs qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu dans la poursuite de nos études.*

*Je teins a remercié également Mr RAMDANE Sidali pour son soutien, son encouragement.*

*Je tiens à témoigner toute ma gratitude à mon mari, pour sa confiance, sa motivation et son support inestimables.*

*Mes mots sont trop petits pour exprimer toute la gratitude que mon cœur contient pour vous qui êtes si attentifs, patients, compréhensifs et aimables envers moi : mes parents, mes sœurs, ma tante, mes remerciements vont à toute ma famille.*

*Mes remerciements particuliers à ma princesse Rinad source d'énergie et de bonheur.*

*J'ouvre ici mon cœur à tous ceux qui ont contribué de prêt ou de loin à l'élaboration de ce mémoire, et j'adresse à tous mes sincères remerciements.*

## Liste des figures

---

Figure I.1 Arbre de <i>Melia Azedarach</i> .....	5
Figure I.2 Les feuilles de <i>Melia Azedarach</i> .....	5
Figure I.3 Les fleurs de <i>Melia Azedarach</i> .....	5
Figure I.4 Les fruits <i>Melia Azedarach</i> .....	6
Figure I.5 Structure Chimique de <i>Melia Azedarach</i> .....	10
Figure I.6 Représentation schématique d'une extraction par pression.....	14
Figure I.7 Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet (Anonyme3) .....	15
Figure I.8 Représentation schématique d'un Clevenger .....	16
Figure II.1.a la pulpe de <i>Meli Azedarache</i> .....	19
Figure II.1. b Les graines de <i>Melia Azedarach</i> .....	19
Figure II.2 Photos de fruit de <i>Melia Azédarach</i> .....	20
Figure II.3 L'extracteur .....	21
Figure II.4 Schéma descriptif d'un spectrophotomètre infrarouge .....	25
Figure II.5.a Illustration de la méthode des chromatogrammes .....	27
Figure II.5.b Illustration de la méthode de la micro- atmosphères .....	27
Figure III.1 Graphe de résultat de l'analyse par spectrophotomètre infrarouge .....	31
Figure III.2 Chromatogramme de l'HV de <i>Melia Azedarach</i> analysée par CG-MS.....	32

## Liste des tableaux

---

Tableau I.1 Activités biologiques du <i>Melia Azedarach</i> .....	6
Tableau I.2 Liste des composés bioactifs présents dans <i>Melia Azedarach</i> .....	9
Tableau I.3 Révèle quelques différents constituants chimiques des feuilles de <i>Melia</i> .....	11
Tableau I.4 La répartition de substances naturelles dans le fruit de <i>Melia</i> .....	11
Tableau I.5 Composition en acides gras de l'huile de <i>Melia Azedarach</i> .....	12
Tableau II.1 Conditions opératoires de la CG/MS .....	24
Tableau II.2 Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés .....	28
Tableau III.1 résultats des caractéristiques organoleptique de <i>Melia azédarach</i> .....	30
Tableau III.2 es résultats de l'analyse des caractères physico –chimique de l'huile de <i>Melia Azedarach</i> selon les normes AFNOR.....	30
Tableau III.3 la composition en acide gras de <i>Milia Azedarach</i> avec CPG.....	33
Tableau III.4 Les résultats de l'évaluation de la toxicité .....	33
Tableau III.5 Résultat des extractions .....	34
Tableau III.6 Description succincte des méthodes utilisées lors du criblage phytochimique.....	35
Tableau III.7 les résultats de l'activité antimicrobienne et antifongique de l'HV .....	36
Tableau III.8 de l'activité anti bactérienne des extraits de pulpe.....	37

## **LISTE DES ABBREVIATIONS**

---

**AFNOR** : Association Française de la Normalisation.

**HCl** : Acide chlorhydrique

**CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>** : Dichlorométhane

**HV** : Huile Végétal.

**IR** : Infra Rouge.

**CG-MS** : Chromatographie en phase Gazeuses Couplée a la Spectrométrie de Masse.

**IS** : Indice de Saponification.

**IA** : Indice d'Acidité.

**Bi (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>**: Nitrate de bismuth

**CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O** Anhydride acétique

**H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>** Acide sulfurique

**Mg** : Magnésium

**HgCl<sub>2</sub>** : **Chlorure** mercurique II

**KI** : Iodure de potassium

**NaCl** : Chlorure de sodium

**FeCl<sub>3</sub>** Chlorure ferrique

**MeOH** : Méthanol

**CHCl<sub>3</sub>** : Chloroforme

**NH<sub>4</sub>OH** : Hydroxyde d'ammonium

**UV** : Ultra-Violet

## Table des matières

---

Liste des figures	
Liste des tableaux	
<b>Références bibliographiques</b>	
Résumés	
Introduction .....	1
Chapitre I : Données Bibliographiques	
I.1 Généralité sur les plantes médicinales .....	3
I.2 Généralités sur <i>Melia Azedarach</i> .....	3
I.2.1 Origine et répartition dans le monde .....	3
I.2.2 Etymologie.....	4
I.2.3 Classification botanique.....	4
I.2.4 Ecologie .....	4
I.2.5 Description botanique .....	4
I.2.6 Propriété thérapeutique .....	6
a- Utilisation en médecine traditionnelle .....	6
b- Utilisation dans la santé du bétail.....	7
c- Utilisations dans les ménages .....	8
d- Utilisation dans l'agriculture en protection des végétaux .....	8
I.2.7 Toxicologie.....	8
I.2.8 La composition chimique de la plante.....	9
a- Composition chimique des feuilles .....	11
b- Composition chimique de l'écorce et des racines .....	11
c- Composition chimique des fruits.....	11
I.3 Les huiles végétales.....	12
I.3.1 Définition des huiles végétales .....	12
I.3.2 L'intérêt des huiles végétales .....	12
a- Intérêt dans la lutte biologique.....	12
b- Intérêt thérapeutique .....	13
c- Intérêt nutritif .....	13
I.3.3 L'huile de <i>Melia Azedarach</i> .....	13
I.4 Les méthodes d'extraction de l'huile à partir des graines .....	13
I.4.1 Méthode d'extraction par pression .....	14
I.4.2 Méthode d'extraction par première pression à froid .....	14
I.4.3 Méthode d'extraction par Soxhlet .....	14

I.5 Les huiles essentielles .....	15
I.5.1 Définition .....	15
I.5.2 Les méthodes d'extraction de l'huile essentielle .....	15
I.6 Extraction .....	16
I.6.1 Définition .....	16
I.6.2 Principe de l'extraction solide-liquide .....	17
I.6.3 Criblage phytochimique .....	17
Chapitre II : Matériel et Méthode	
II.1 Matériels : .....	19
II.1.1 Matériels non biologique .....	19
II.1.2 Matériel biologique .....	19
II.2. Les méthodes .....	19
II.2.1 Traitement préliminaire de la plante <i>Melia Azedarach</i> .....	19
a- Récolte .....	19
b- Décorticage .....	19
c- Séchage .....	20
d- Pesée .....	20
II.2.2 Extraction d'huile essentielle (HE) de la pulpe .....	20
II.2.3 Extraction d'huile végétale (HV) de <i>Melia Azedarach</i> .....	20
II.2.4 Filtration stérilisante de l'huile .....	21
II.2.5 Rendement R en huile .....	21
II.2.6 Identification des caractères organoleptiques .....	21
II.2.7 Etude des caractères physico-chimiques de l'huile de graines de <i>Melia Azedarach</i> ...	22
a- Etude analytique .....	22
b- Analyse des constantes physico-chimiques .....	22
II.2.8 Indice physique .....	22
a- La densité relative ( $D_{20}$ ) (AFNOR NFT 75-111) .....	22
b- Indice de réfraction à 20°C (AFNOR NET 75-112) .....	22
II.2.9 Indices chimiques .....	23
<b>a-</b> Indice d'acide .....	23
<b>b-</b> Indice de saponification ( $I_s$ ) .....	23
<b>c-</b> Indice d'ester ( $IE$ ) .....	23
II.2.10 L'analyse Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/MS .....	24

II.2.11 L'analyse par le Spectrophomètre Infra-rouge.....	25
II.2.12 l'évaluation de la toxicité de l'huile de <i>Melia Azedarach</i> .....	26
II.2.13 Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile de <i>Melia Azedarach</i> .....	26
<b>a-</b> Méthode de l'aromatogrammes .....	27
<b>b-</b> Méthode de la micro atmosphère .....	27
<b>c-</b> Méthode par dilution.....	28
 Chapitre III : Résultat et Discussion	
III.1 Résultat d'extraction de l'huile .....	30
III.1.1 Rendement de l'huile.....	30
III.1.2 Les caractéristiques organoleptiques.....	30
III.1.3 Analyse des caractères physico – chimique de l'huile végétale de <i>Melia Azedarach</i> .....	30
III.1.4 Les résultats de l'analyse de l'huile de <i>Melia Azedarach</i> par infrarouge.....	31
III.1.5 L'analyse Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/MS .....	32
III.2 l'évaluation de la toxicité de l'huile de <i>Melia Azedarach</i> .....	33
III.3 Résultats d'extraction d'huile de la pulpe.....	33
III.4 L'extrait brut de la pulpe.....	33
III.4.1 Principe de l'extraction solide-liquide .....	33
III.4.2 Criblage phytochimique.....	34
III.5 Résultat des tests antimicrobiens .....	36
III.5.1 Les résultats de l'activité anti microbienne d'huile de <i>Melia Azedarach</i> .....	36
III.5.2 Analyse de l'activité anti bactérienne des extraits de pulpe.....	37
<b>Conclusion</b> .....	39
 <b>Bibliographie.</b>	
<b>Annexes.</b>	



## ملخص

يتركز عملنا على دراسة بعض مستخلصات نبات *Melia Azedarach* وتأثيراتها البيولوجية. هذا النبات موجود بشكل كبير في الجزائر ولكنه ليس له المكانة التي يستحقها بين الأنواع النباتية. إنها توضح فائدة مزدوجة: حل المشكلات البيئية وزيادة الاهتمام الصناعي ، حيث يمكن استخدام بقايا إنتاج الزيت من البذور كسماد. وإن المستخلصات التي نهتم بدراستها هي الزيت النباتي المستخرج من البذور والزيوت الأساسية والمستخلص الخام من اللب. كما أظهرت التحليلات الفيزيائية والكيميائية السابقة أن زيوتنا النباتية ذات جودة جيدة وأن الأداء يبلغ 9.2%. ويشير تحليل مقياس الطيف الضوئي بالأشعة تحت الحمراء إلى أن زيت *Melia Azedarach* غني بالأحماض الدهنية. كما لم يكن تحليل الزيوت النباتية لـ *Melia Azedarach* GC-MS حاسماً، ويمكن تحديد مركب على أنه مثيل الفا بنزوات. لم يكشف استخراج الزيت العطري من اللب بواسطة Clevenger عن أي أثر من ناحية أخرى، كما يوضح مستخلص اللب الخام وفقاً لأحدث الأعمال أن اللب يحتوي على مركبات كيميائية فعالة، ودراسات للتأثير المضاد للبكتيريا بتقنيات مختلفة، حيث أظهرت دراسة الزيوت النباتية من البذور واللب أن المستخلص الخام من اللب الذي تم الحصول عليه بواسطة الميثانول يظهر نتائج إيجابية وفقاً للعمل الأخير. ويشير اختبار السمية إلى أن الزيت النباتي غير سام لهذا الزيت النباتي من *Melia Azedarach*، ويظل اختبار السمية قيد التقييم بسبب نقص التوثيق.

**الكلمات الافتتاحية:** *Melia Azedarach*؛ زيوت نباتية GC-MS؛ النشا، مستخلص الزيت العطري الخام، الميثانول، القياس الطيفي.

## Résumé :

Notre travail se concentrent sur l'étude de quelque extrait de la plante *Melia Azédarach* et de leurs effets biologiques. Cette plante très présente en Algérie mais elle n'a pas la place méritée parmi les espèces végétale. Elles illustrent un double intérêt : résolution des problèmes environnementaux et augmentation de l'intérêt industriel, les résidus de la production d'huile provenant des graines (**tourteau**) peuvent servir d'un compost.

Les extraits ont qui nous somme intéressés sont l'huile végétales extrait des graines et l'huile essentielle et extrait brut de la pulpe. Les analyses physico-chimiques précédentes ont montré que nos huiles végétales sont de bonne qualité et que la performance est de 9,2 %. Une analyse par spectrophotomètre infrarouge IR indique que l'huile d'azédarach de *Melia* est riche en acides gras. L'analyse des huiles végétales pour GC-MS du côté de *Melia Azedarach* n'a pas été concluante, Un seul composé correspondant au temps de rétention 10,34 mn a pu être identifié qui est le Benzenpropanal- $\alpha$ -méthyle. L'extraction d'huile essentielle de pulpe par Clevenger n'a révélé aucune trace par contre l'extrait brut de pulpe selon les travaux récentes montres que la pulpe possède des composés chimiques efficace, Une étude de l'effet antibactériens des bactéries avec différentes techniques, dont l'Aroma gramme du huiles végétales des graines et de pulpe montre que l'extrait brut de pulpe par obtenue par méthanol présente des résultats positive selon des travaux récentes. Le test de toxicité indique que l'huile végétales est non toxique de cette huile végétale de *Melia Azedarach* le test de toxicité reste eu évalué vu manque de documentation

**Mots clés :** *Melia Azedarach* ; huiles végétales ; GC-MS ; amidon, huiles essentielles extrait brut, méthanol, spectrophotométrie.

**Abstract:**

Our work focuses on the study of some extracts of the plant *Melia Azedarach* and their biological effects. This plant is very present in Algeria but it does not have the place deserved among the plant species. They illustrate a double interest: solving environmental problems and increasing industrial interest, in which the residues of the production of oil from seeds (tourteau) can be used as compost. The extracts we are interested in are the vegetable oil extracted from the seeds and the essential oil and crude extract from the pulp. Previous physico-chemical analyses have shown that our vegetable oils are of good quality and that the performance is 9.2%. An analysis by IR infrared spectrophotometer indicates that *Melia azedarach* oil is rich in fatty acids. The analysis of the vegetable oils for GC-MS on the side of *Melia azedarach* was not conclusive, only one compound corresponding to the 10.34 min retention time could be identified which is Benzenpropanal- $\alpha$ -methyl. The extraction of essential oil of pulp by Clevenger has revealed no trace on the other hand the crude extract of pulp according to recent work shows that the pulp has effective chemical compounds, A study of the antibacterial effect of bacteria with different techniques, including the Aroma gram of vegetable oils from seeds and pulp shows that the crude extract of pulp by obtained by methanol shows positive results according to recent work. The toxicity test indicates that the vegetable oil is non-toxic from this vegetable oil of *Melia Azedarach* the toxicity test remains evaluated due to lack of documentation

**Keywords:** *Melia Azedarach*; vegetable oils; GC-MS; starch, essential oil crude extract, methanol, spectrophotometry.

# Introduction

## **Introduction :**

Les sages de chaque peuple étudiaient toutes les herbes qu'ils avaient sous la main et transmettaient, oralement le plus souvent, leurs savoirs aux générations suivantes. (**Jourdain D., 1997**).

L'Algérie, regorge de plantes médicinales qui sont encore méconnues et exploitées de façon artisanale. (**Abdelguerfi A., Ramdane MSA., 2003**).

En effet, l'utilisation des plantes médicinales et aromatiques pour l'industrie cosmétique et pharmaceutique, ainsi que pour la production alimentaire, reste un domaine vierge en **Algérie** (**Reguieg L.,2011**).

Parmi les diverses plantes qui sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques nous nous sommes intéressées à *Melia Azedarach L.* (**MELIACEAE**).

En Algérie *Melia Azedarach* est rependue dans les régions arides et semi-aride, elle est utilisée comme arbre ornementales vue de sa floraison.

L'objectif de ce présent travail est une contribution à la valorisation des extraits de fruit de *Melia Azedarach*.

Pour cela nous avons articulé notre travail au tour de 3 parties :

Une partie bibliographique ou nous avons évoquées quelques généralités sur la plante médicinales, généralités sur *Melia Azedarach*, étude sur les huiles végétales, les huiles essentielles et extrait brut des plantes.

Une partie de matériels et méthodes.

Une partie de résultats et discussion.

Et nous terminerons par une conclusion.

# Chapitre 1 - BIBLIOGRAPHIE

## I.1 Généralité :

Les hommes ont toujours pratiqué cette médecine élémentaire et efficace se transmettant de génération en génération leur savoir empirique. La médecine douce n'est pas une thérapeutique nouvelle : la phytothérapie est seulement une reconnaissance (Boulous, 1983).

La phytothérapie s'intègre dans la thérapeutique moderne. Elle fait partie de la médecine qui n'est pas considérée comme une thérapie douce (Biauchinif et Corbetta, 1975).

Les plantes sont dites médicinales lorsqu'un de leurs organes possède des activités pharmacologiques, pouvant conduire à des emplois thérapeutiques (Bruneton, 1993).

Les plantes produisent déjà 70% de nos médicaments, déjà environ 170000 molécules bioactives ont été identifiées à partir de plantes (CHAABI, 2008).

### I.1.1. Définition des plantes médicinales

On appelle une plante médicinale toutes plantes renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toutes une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions différentes suivant leur préparation (Schauembery, 1977).

Parmi les diverses plantes qui sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques nous nous sommes intéressés à *Melia azedarach* qui est considéré comme remède universel car toutes ses parties ont des vertus thérapeutiques et bio insecticides.

On appelle une plante médicinale toutes plantes renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies. Certaines plantes contenant toutes une gamme de matières efficaces peuvent avoir des actions différentes suivant leur préparation (Schauembery., 1977).

Parmi les diverses plantes qui sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques nous nous sommes intéressés à *Melia Azedarach* qui est considéré comme remède universel car toutes ses parties ont des vertus thérapeutiques et bio insecticides.

## I.2 Généralités sur *Melia Azedarach* :

### I.2.1 Origine et répartition dans le monde :

*Melia azedarach* L. est un arbre d'ornement à croissance rapide. Il se produit généralement dans les régions tropicales et subtropicales de l'Asie. Il serait originaire de Perse, la Chine et l'Inde (Peter et al., 2003). Cette espèce est cultivée et naturalisée dans toute l'Inde. De nos jours, il est aussi cultivé dans d'autres régions chaudes du monde en raison de sa grande tolérance climatique (Senthil-Nathal et al., 2006). De là, *M. azedarach* est naturalisé dans un certain nombre de pays, tels qu'en Afrique dont l'Algérie, en Australie et dans les Amériques. (Méndez et al., 2002; Huang et al., 1997; Peter et al., 2003).

### I.2.2 Etymologie :

Grâce à la large répartition géographique de *Melia Azedarach*, une vingtaine d'appellations sont connues à travers le monde :

En français elle est appelée arbre à Chaplet, car les noyaux de ses fruits servaient à faire des chapelets dans les pays catholiques de la méditerranée (Brosse., 2004), et elle est appelé aussi Lilas de Perse ainsi que le Margousier ou Lilas de Chine.

En anglais elle est appelée Margosa Tree, Bead Tree, Persian Lilac ou Pride of India.

A Madagascar elle est appelée « Voandelaka Gasy ».

En arabe c'est Zanzalakh, Azadiakh, Shagarra hurrah (WATT., 1889)

### I.2.3 Classification botanique :

Selon Guinard (1994), *Melia Azedarach* est classée comme suit :

<b>Règne</b>	: Plantea
<b>Embranchement</b>	: Spermaphyte
<b>Sous embranchement</b>	: Angiospermes
<b>Classe</b>	: Magnoliopsida
<b>Sous classe</b>	: Rosidae
<b>Ordre</b>	: Sapindales
<b>Famille</b>	: Meliaceae
<b>Genre</b>	: <i>Melia</i>
<b>Espèce</b>	: <i>Melia azedarach</i>

#### **I.2.4 Ecologie :**

Cette espèce est une plante rudérale, son aire de répartition est très large, elle possède une grande souplesse biologique ainsi qu'une plasticité écologique et supporte diverses variations de conditions environnementales (sécheresse, excès d'humidité et température variée). C'est une plante à grande fécondité et à pouvoir germinatif élevé. Tout ceci lui assure un envahissement rapide des diverses régions (**Cabanis et al., 1969**).

*Melia Azedarach* se développe sur tout type de sol, allant d'un sol riche et humide jusqu'à un sol pauvre et sec (**Kerharo., 1975**).

#### **I.2.5 Description botanique :**

*Melia azedarach* est un arbre de la famille des Meliaceae (Figure I.1). Il est haut de 6-12 m, certaines variétés de la forêt tropicale pour atteindre 30 à 45 mètres (Oelrichs et al., 1985 ; Hare et al., 1997). L'écorce est brun rougeâtre et est fissurée sur des arbres arrivés à maturité. Les inflorescences en panicules axillaires sont lâches et longues de 10 à 20 cm, aux fleurs violettes (Figure I.3), parfumées et en forme d'étoile, de 1-2 cm de diamètre, à 5 pétales étroits. Les fruits à maturité sont de couleur jaune et sont sphériques (Figure I.4).



**Figure I.1** Arbre de *Melia Azedarach*. Anonyme 5



**Figure I.2** Les feuilles de *Melia Azedarach*. Anonyme 5





Figure I.3 Les fleurs de *Melia Azedarach*. Anonyme5



Figure I.4 Les fruits *Melia Azedarach*.Anonyme 5

### I.2.6 Propriété thérapeutique :

#### a- Utilisation en médecine traditionnelle :

*Melia Azedarach* a été étudiée en détail par de nombreux chercheurs en référence à son potentiel d'activité comme une plante médicinale (Al-Rubae, 2009).

Il a également été très étudié par la médecine moderne : les effets antiseptiques, anti-inflammatoires, hypoglycémiant, antibactériens, antipaludéens, antiviral, etc., de divers constituants des feuilles, écorces, graines, racines sont maintenant établis. Ainsi, plusieurs médicaments à base d'extraits de neem sont commercialisés en Inde (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Le tableau I.1 résume les activités biologiques de la plante.

### Tableau I.1 Activités biologiques du *Melia Azedarach*.

Partie de la plante	Activités Biologiques
	Diurétique, anthelminthique, résolvente, antidiarrhéique et désobstruant. Efficace dans les maladies de la peau, l'hystérie, les maux de dents, la fièvre, Les douleurs rhumatismales. Extrait des feuilles fraîches est appliquée pour des brûlures à l'extérieur.
Les feuilles (Khan AV et al., 2011 Handa S.S et al., 2006)	5 ml d'extrait de feuilles est administré par voie orale trois fois par jour pour les pieux. 5 à 10 ml d'extrait de feuille est pris par voie orale deux fois par jour pendant sept jours dans la pyrexie. Extrait de feuilles est utilisée pour guérir l'éruption sur le cuir chevelu et aussi pour des maux de tête, et il est utilisé aussi comme rince-bouche pour la gingivite, sanglants pieux, morsure de serpent et le diabète. Les feuilles sont utilisées dans l'anémie, l'eczéma et la rougeole, la jaunisse, traiter le paludisme et d'expulser les vers parasite.
Tige (Warrier PK et al., 1995 Dhiman A.K., 2003)	Administrer dans l'asthme.
Ecorce (Khan. AV et al., 2011) Rahmatullah MM et al., 2010, Sharma PC et al., 2001)	Prescrit dans la fièvre pour soulager la soif, les nausées, les vomissements et une perte d'appétit. 30 à 50 ml de l'infusion de l'écorce de la tige est utilisé par voie orale deux fois par jour pour la gonorrhée. Efficace pour les douleurs rhumatismales.
Racines Mishra G et al., 2013 Sen A et al., 2010	Les racines sont amères, astringent, antalgique, dépuratif, vulnéraire, antiseptique, vermifuge, constipé, désobstruant, résolvente, expectorant, fébrifuge.
Les fleurs Warrier PK et al., 1995	Ils sont utilisés comme astringent, diurétique, antalgique, résolutif désobstruant, vermicide, Stomachique et réfrigérant.
Sen A et al., 2010 Saleem R et al., 2008	Efficace pour tuer les poux et soigner les maladies bactériennes de la peau chez les enfants, y compris les pustules, et les infections pyogènes.
Fruits Sen A et al., 2010 Crolley TG, hasquawa GR., 2007 Rani M et al., 1999	Les fruits sont utilisés pour la préparation de tonique qui est purgative, émolliente et anthelminthique. Les fruits sont réputés pour être puissamment vermifuges
Graines Sen A et al., 2010	Amère, aphrodisiaque, expectorant, vermifuge, utilisé dans la fièvre typhoïde, les écrouelles, les helminthiases et dans la douleur de la région pelvienne.
Huile des graines khan AV et al., 2011 Crolley TG, Hesquawa GR., 2007	Antiseptique pour les plaies et les ulcères, maladies de la peau, par exemple, la teigne, la gale et les rhumatismes. L'huile est utilisée en interne dans la fièvre du paludisme et de la lèpre.

#### **b- Utilisation dans la santé du bétail :**

Les feuilles mélangées avec les pailles de couvaion peuvent prévenir ou tuer les mallophages parasites des poules couveuses, Ainsi que les fourrages composés avec des feuilles de *Melia Azedarach* servent à entretenir la santé bovine et présente aussi des effets antihelminthiques (**Hajaniaina., 1998**).

#### **c- Utilisations dans les ménages :**

Grâce à ces racines profondes, *Melia Azedarach* était autrefois plantée sur les bords des parcs pour retenir le sol dans les régions d'Afrique. Les feuilles mélangées au charbon de bois, servent à peindre des tableaux noirs. Les feuilles de *Melia Azedarach* accélèrent la maturation des fruits climatérique : avocat, bananes, kaki, mangue. Les feuilles broyées peuvent remplacer les savons locaux.

Les feuilles broyées, épandus dans la chambre, sous les matelas, tuent les puces et les punaises, comme ce qui est pratiqué également avec le neem. L'extrait brut des feuilles est souvent employé pour tuer les poux et les feuilles fraîches jetées au feu peuvent éloigner les moustiques. Le bois qui est tendre est facile à raboté et a manipulé comme le sapin est utilisé en ébénisterie (**Hajaniaina., 1998**).

#### **d- Utilisation dans l'agriculture en protection des végétaux :**

*Melia Azedarach* est utilisé dans la protection de la riziculture. L'extrait aqueux des feuilles épandu aux bordures des pépinières et à l'intérieur des rizières éloigne les poux du riz.

En cultures maraichères, l'extrait aqueux des feuilles macérées (pendant 24 h) ou non est utilisé pour la lutte contre des vers chenilles désolatrices et contre les sautereaux.

Face à la montée des attaques des nématodes et des insectes terricoles sur la riziculture, les paysans enfouissent dans les rizières des découpes de feuille de *Melia Azedarach* (**Hajaniaina., 1998**).

La poudre de graines de Neem, à 1 ou 2% en poids assure la protection des graines pendant plus un an contre *Trichoderma*, *Rhizopertha*, *Sitophilus* (**A Jussieu., 1988**).

La poudre de tourteau mélangée à l'urée permettait une économie importante d'engrais azoté principalement pour la culture de riz et de la canne à sucre (**A Jussieu., 1988**).

#### **I.2.7 Toxicologie :**

La toxicité des fruits due aux tetranorterpènes varie avec les facteurs environnementaux et le stade de la croissance de l'arbre, ce qui rend l'évaluation des risques difficile (**Tam Garland et A.**

**CatherineBarr.,1998**) Les rapports cliniques indiquent que l'ingestion de 5 ou 6 fruits par les jeunes chiens ou 6 à 8 fruits par les enfants peut être fatale (**Hare W.R.,1997**).

La revue de la littérature médicale chinoise rapporte que l'intoxication humaine se produit lorsque 6 à 9 fruits, 30 à 40 graines ou 400 g d'écorce sont consommés (**Godofredo U., Stuart Jr.,2013**).

Les toxines dans les différentes parties de l'arbre permettent de jouer un rôle primordial dans la protection des végétaux. Elles luttent contre plus de 400 espèces d'insectes ravageurs, dont certaines sont résistantes aux pesticides chimiques.

Ses propriétés ovicides et larvicides lui permettent d'affecter la ponte des femelles de certains arthropodes ainsi que la mue et la croissance des larves, affaiblissant ainsi la résistance de ces insectes (**BenGhnaya A et al., 2013**).

#### **I.2.8 La composition chimique de la plante :**

Les composants les plus importants et qui sont aujourd'hui les mieux connus sont : l'azadirachtine, Salannine, Méliantriol, Nimbine aussi Nimbidine (tableau I.2) (**Duranton et al., 1982**).

**Tableau I.2 Liste des composés bioactifs présents dans *Melia Azedarach*.**

Composés	localisation	Activité biologique
Nimbine		Anti-inflammatoire Anti-arthrite Antipyrétique
Hypoglycémique		Anti-Ulcère gastrique Spermicide Antifongique Antibactérien Diurétique
Nimbidate de sodium		Anti-inflammatoire
Nimbine	Huile de graines	Spermicide
Nimbolide	Huile de graines	Antibactérien
Anti-malaria		
Gédunine	Huile de graines	Antifongique    Anti malaria
Azadirachtine	Graines	Anti malaria
Mahmoodine	Huile de graines	Antibactérien
Acide gallique, (-) épicatechin et catéchine	Ecorce	Anti-inflammatoire Immuno modérateur
Margolone, Margolonone et isomargolonone	Ecorce	Antibactérien
Trisulfide cyclique et tétrasulfide cyclique	Feuilles	Antifongique
Polysaccharides		Anti-inflammatoire
Polysaccharides GIa, GIb	Ecorce	Antitumoral
Polysaccharides GIIa, GIIb	Ecorce	Anti-inflammatoire
NB-II peptidoglycane	Ecorce	Immunomodérateur

**(Biswas et al., 2002)**

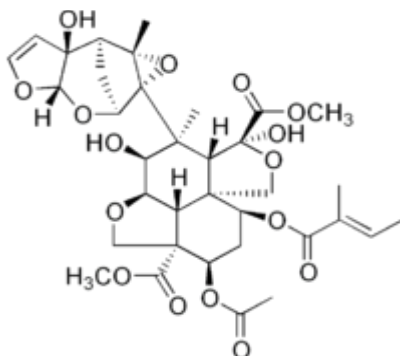
- **Azadirachtine :**

L'azadirachtine est structurellement similaire aux hormones des insectes appelées « ecdysones » qui contrôle la métamorphose. Les amandes de *Melia* contiennent de 2 à 4 mg d'azadirachtine par gramme d'amande (Vigner., 1978).

L'azadirachtine est l'élément principal de l'arbre, il représente 90% d'effets répulsifs aux insectes prédateurs. Il ne tue pas immédiatement les insectes mais dérègle leur croissance et leur développement.

D'après ce même auteur, l'azadirachtine est classé parmi les plus grands régulateurs de croissance et inhibiteurs de prise de nourriture sur plusieurs espèces d'insectes.

L'azadirachtine de formule chimique C<sub>35</sub>H<sub>44</sub>O<sub>16</sub> est un composé de la famille des limonoïdes; c'est un tétranortriterpénoïde hautement oxydé (structure multi cyclique), il présente une grande variété de fonctions oxygénées comme les éthers énoliques, acétals, héli acétal et des oxiranes tétra substitués ainsi que des esters carboxyliques voir (figure 1.5) (**Ben Ghnaya A. et al**).



**Figure I.5 Formule chimique de la molécule d'azadirachtine**

L'azadirachtine est le composé le plus actif contre les insectes, c'est en fait un mélange de 7 composés isométriques (A à G), l'isomère A est le plus abondant, cependant c'est l'isomère « E » qui présente les propriétés insecticides. Il agit à la fois sur la croissance et le développement de l'insecte (croissance larvaire, mue) et comme facteur anti nutritif (**Hurtel., 2007**).

D'autres composés présents dans *Melia Azedarach* (feuilles, bois, ou huile) ont aussi un pouvoir insecticide, principalement de type hormonal ou anti nutritif, parmi les composés les plus actifs en plus de l'Azadirachtine il y'a la Salannine, le Meliantriol, et le Nimbine (**Hurt el., 2007**).

- **Méliantriol :**

Il constitue un anti appétant, capable d'inhiber la prise de nourriture des insectes pour de très faibles concentrations (**Vigner., 1978**).

- **Salannine :**

Le troisième triterpénoïde isolé de mélia est le Salannine, capable d'inhiber la prise de nourriture lui aussi, mais n'influence pas la mue des insectes (**Vigner., 1978**).

- **Nimbine et Nimbidine :**

Les deux composés présentent une activité antivirale ; en effet ils affectent le virus x de la patate, le virus vaccina et le virus « *fowl pox* ». Tous ces composés sont plus abondants et plus accessibles dans les amandes, ils sont obtenus par plusieurs méthodes d'extraction. Cependant les ingrédients sont faiblement solubles dans l'eau, mais très solubles dans les solvants organiques comme l'alcool, l'acétone et l'éther (**Hurtel., 2007**).

**A- Composition chimique des feuilles :**

L'identification et la purification des matières actives des feuilles de *Melia Azedarach* ont débuté en 1946 par Chauvin (**Chauvin R.,1946**), qui a isolé la substance amère appelée meliatine. D'autres études ont indiqué que ces feuilles contiennent essentiellement des c-secomeliacines tels que : nimbine, nimbinène, nimbandial, nimbolide, quercétine (**Ben Ghnaya A et al., 2013**).

**Tableau I.3 Révèle quelques différents constituants chimiques des feuilles de Melia.**

Composions	Feuilles juvéniles	Feuilles matures
<b>Protéines (%)</b>	6.60	6.10
<b>Lipides (%)</b>	2.80	1.08
<b>Fibres (%)</b>	10.96	10.33

(Italo Chiffelle G et al.,2009)

**B- Composition chimique de l'écorce et des racines**

L'écorce et le bois jeune contiennent des tanins aux propriétés astringentes, mais aussi des triterpénoïdes, plus précisément des protomeliacines, des limonoïdes, des azadirones et leurs dérivés (**Ben Ghnaya A et al.,2013**). Les racines de la plante ont montré la présence des trapézoïdes, des limonoïdes, des flavonoïdes, des stéroïdes et des acides (**Sharma D.et Paul Y., 2013**).

## C- Composition chimique des fruits

Les recherches sur la composition du fruit du *Melia Azedarach* ont montré la présence d'une diversité de substances naturelles regroupant des lipides, des protéines et des glucides, qui sont calculées par rapport à la matière sèche dans le tableau I.4.

**Tableau I.4 La répartition de substances naturelles dans le fruit de *Melia*.**

	Matière Sèche	Glucides	Lipides	Protéines
MA	100	4.34	32.47	1.96

(Milla A et al.,2011 )

### I.3 Les huiles végétales :

#### I.3.1 Définition des huiles végétales :

Les huiles végétales sont des esters d'acide gras à poids moléculaire élevé, visqueuse et peu volatiles. Elles sont divisées en huiles siccatives ou semi -siccative selon leur capacité à s'épaissir en présence d'oxygène (Balachovsky., 1959). Elle recèle une grande hétérogénéité d'acide gras saturé ou insaturé. (Tableau I.5)

**Tableau I.5 Composition en acides gras de l'huile de *Melia Azedarach*.**

ACIDES GRAS	%
Acide Palmitoléique	0,1
Acide Palmitique	7,4
Acide Stéarique	3,1
Acide Arachidique	0,2
Acide Linoléique	0,2
Acide Oléique	13,5
Acide Linoléique	74,1
Acide gondoïque	0,4
Acide axlepique	0,8
Autre	0,1

(La voisier., 1995).

Les graines de *Melia* contiennent approximativement 40 % d'huile végétale (Ascher.,1995). Cette huile riche en acide gras, et en triterpénoïdes potentiellement actifs : l'azadirachtine, la nimbine, la nimbidine, l'azadirone, et les méliacines (Dai J et al.,1999).

La saponification de l'huile de baies vertes de *Melia Azedarach* donne de l'acide linoléique 65%, et de l'acide oléique 20%. Autre de l'acides palmitique et stéarique, les acides gras saturés ou insaturés sont présents à de très faibles quantités.

#### I.3.2 L'intérêt des huiles végétales :

##### a- Intérêt dans la lutte biologique :

Les huiles végétales ont été utilisée très tôt dans la lutte contre les insectes sous forme d'émulsion. Ce sont à la fois des insecticides de contact qui agissent par leurs propriétés physique et chimique et des adjuvants pour des molécules liposolubles et dans certains cas synergistes (Balachovsky.,1959).

Les propriétés insecticides des huiles végétales procèdent à différents niveaux. De leurs propriétés physiques résultent plusieurs types de toxicité :

- Une toxicité par inhalation provoquées par leur richesse en composé volatils.
- Une toxicité de contact qui provient de la formation d'un film imperméable, isolant l'insecte de l'air et provoquant son asphyxie, mais aussi d'une pénétration en profondeur grâce au caractère amphibolique de certain de leurs composés (Regnault-Roger et Caupin.,1994).

##### b- Intérêt thérapeutique :

Les huiles végétales regroupent des propriétés intéressantes à maints égards :

- Elles renforcent le système immunitaire, elles combattent le cholestérol, elles régénèrent la peau.

- Elles ont des vertus expectorantes et des propriétés hydratantes.
- Elles traitent l'eczéma et cicatrisent la peau.

Les études plus tôt ont indiqué que l'huile de neem (plante de la même famille que *Melia Azedarach* a une activité antibactérienne contre 14 bactéries pathogènes. (**Baswaet al.,2001**). Parmi ces bactéries : Staphylococcus aureus (**Rao et al.,1986**), Staphylococcus typhus (**Patel etTrivedi 1962**), Escherichiacoli, Streptococcus mutans et lactobacilles (**Vankaet al.,2001**).

- Selon Singh et Sastry, (1981) l'activité antimicrobienne d'huile de neem extraite à partir de 1 g de graines était équivalente aux 800 unités internationales de pénicilline ou à 0.5 g de sulfate de streptomycine.

### c- Intérêt nutritif :

Ce sont des apports d'énergie et de nutriments (acides gras, vitamines liposolubles, constituants mineurs d'intérêt tels que les phytostérols ou les composés phénoliques pour l'huile D'olive) (**Anonyme 2.,2010**).

#### I.3.3 L'huile de *Melia Azedarach* :

La composition varie d'un échantillon à un autre et varie aussi en fonction de la période de récolte des graines. Les composés actifs sont nombreux. L'âge des graines et les conditions de stockage peuvent déterminer la concentration des composés actifs (**Biswas et al., 2002**), il n'y a pas de relation entre la quantité d'azadirachtine et la puissance du pouvoir insecticide et antimicrobien de l'huile de *Mélia Azedarach* (**Gauvin et al., 2003**).

En ce qui concerne les molécules d'intérêt de *Melia Azedarach*, on a longtemps pensé que l'azadirachtine est la molécule spécifique de *Melia Azedarach*. Elle était le seul ingrédient actif de cette espèce (**Sagoua., 2009**).

## I.4 Les méthodes d'extraction de l'huile à partir des graines :

- \* méthode par pression.
- \* méthode par premier pression à froid.
- \* méthode du soxlhet.

### I.4.1 Méthode d'extraction par pression :

- **But :**

L'extraction par pression (ou pressage) permet de séparer les liquides en leur appliquant une pression extérieure.

- **Principe :**

Le produit est supporté par une paroi ou une toile permettant le passage du liquide (huile) dans ce type d'extraction la valeur de la pression appliquée joue un rôle important, puisqu'elle risque de provoquer le fluage de mélange solide –liquide à travers les orifices du support lorsque la pression dépasse un certain seuil (**Binbenet Jean Jaque., 2002**).

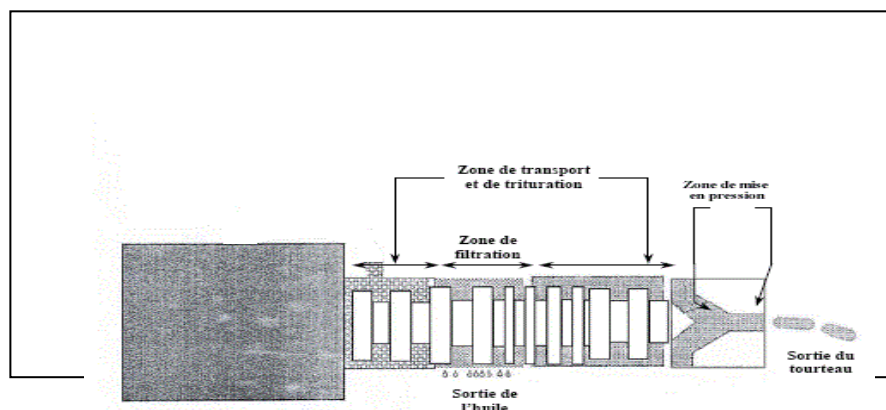


Figure I.6 Représentation schématique d'une extraction par pression.

## I.4.2 Méthode d'extraction par première pression à froid :

### Principe :

Le produit est écrasé et pressé mécaniquement à basse température. L'huile ne subit en suite aucune autre étapes (Binbenet JJ., 2002).

L'extraction de l'huile demeure incomplète. Le tourteau résiduel renferme près de 10% d'huile ce qui l'expose à un risque important de rancissement.

Selon la nature des gras qui y prédominent. Les huiles de première pression à froid sont d'excellentes sources de gras mono-insaturé ou gras poly-insaturé dont font partie les acides gras poly insaturé ou polyinsaturé dont font partie les acides gras essentiels lors de la première pression à froid les acides gras de l'huile ne sont pas détériorés ou transformé en substances toxique (Adirant Frange., 1986).

## I.4.3 Méthode d'extraction par Soxhlet :

### Principe :

Le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le réfrigérant et retombent dans le corps de l'extracteur, faisant ainsi macérer le solide dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon provoquant alors le retour du liquide dans le ballon qui est accompagné des substances extraites. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit donc progressivement en composés solubles.

Le cycle peut se répéter indéfiniment, jusqu'à épuisement complet du solide, d'où l'efficacité remarquable de cette technique par rapport à la simple macération (Anonyme 3) (Figure I.6).

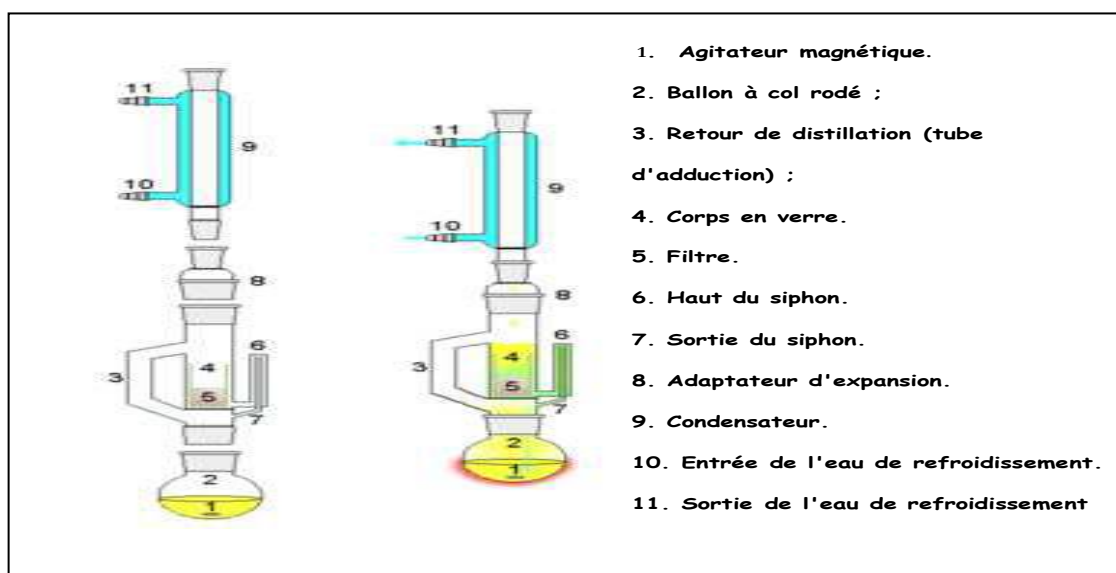


Figure I.7 Représentation schématique d'un extracteur de Soxhlet (Anonyme3).

## I.5 Les huiles essentielles :

### I.5.1 Définition :

Les HE appelées encore « essences » ou « essences aromatiques végétales » sont les substances odorantes, volatiles et de consistance huileuse, contenues dans les plantes (Balz R., 1986).

La plupart des végétaux renferment des HE, mais habituellement en quantité infime. Seules les plantes dites « aromatiques » en produisent en quantité suffisante.

### I.5.2 Les méthodes d'extraction de l'huile essentielle :

L'extraction d'une l'huile essentielle (HE) est nécessairement une opération complexe et délicate. Elle a pour but, en effet, de capter et recueillir les produits les plus volatils, subtils et les plus fragiles qu'élabore le végétal, et cela sans en altérer la qualité (Lahlou M., 2004).

Il existe plusieurs méthodes d'extraction :

- a- Extraction par entraînement à la vapeur d'eau.
- b- Extraction par Hydrodistillation.
- c- Expression à froid.
- d- Extraction par solvant organique.
- e- Extraction assistée par micro-ondes.



## Extraction par Hydrodistillation :

### ❖ Principe :

Elle consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau et l'ensemble est porté à ébullition (F. Elle est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans cohobage des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. (Farhat A., 2010).

Clevenger est désigné par le nom de son inventeur Joseph Franklin Clevenger est une pièce de verrerie modifiée, celle que l'on voit au-dessus du ballon. Le ballon, de taille variable, contient de l'eau que l'on fait bouillir et la plante à extraire. La vapeur monte dans le montage jusqu'à un condensateur, et le condensat retombe dans la petite burette que l'on voit à droite. L'huile flotte sur l'eau, qui est pour sa part progressivement renvoyée dans le ballon chauffé par le conduit en diagonale. Après 2 h d'extraction, on peut mesurer directement dans la burette le volume d'huile recueilli.

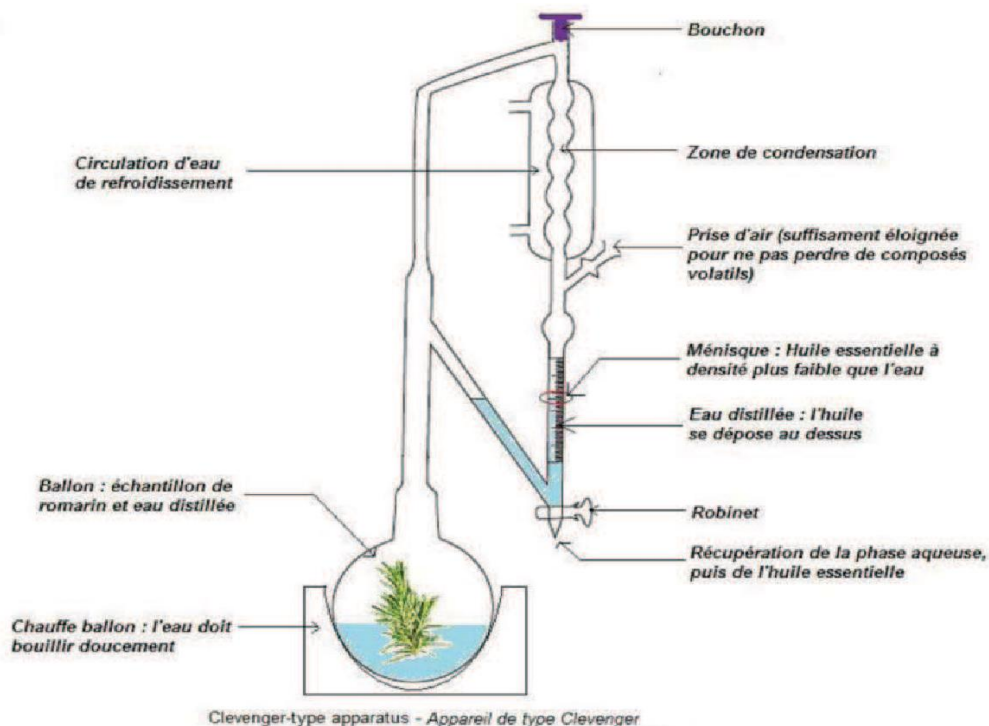


Figure I.8 Représentation schématique d'un Clevenger.

## I.6 Extraction :

### I.6.1 Définition :

L'opération d'extraction consiste à transférer une espèce chimique d'une phase à une autre. A la fin de l'opération, on obtient un liquide dans lequel le composé recherché est soluble (BLANCHARD et Coll., 1987). En chimie, on peut réaliser soit :

- Une extraction solide-liquide
- Une extraction liquide-liquide.

### I.6.2 Principe de l'extraction solide-liquide :

Le principe général est le transfert de matière de la phase solide (poudre de plante : feuilles, pulpes, amandes) à la phase liquide (le solvant). Ce transfert a été réalisé de deux manières :

- Soit par simple contact de la matière végétale avec le solvant. Ce transfert est appelé **la macération**.
- Soit par contacts répétés avec du solvant renouvelé, dans une opération qui fonctionne en continu (**extraction au soxhlet**).

### **I.6.3 Criblage phytochimique :**

Le criblage phytochimique, la première étape de l'étude chimique, effectué afin de déceler les différentes classes chimiques naturelles contenues dans l'échantillon telles que : Triterpènes et Stéroïdes, Flavonoïdes, Leuco anthocyanes, Alcaloïdes, Tanins et Polyphénols, Composés réducteurs, Coumarines, Saponosides et Polysaccharides selon la règle de CIULEI, 1982 et FONG et FARNSWORTH, 1977. Le criblage est basé :

- Soit sur des réactions de précipitation.
- Soit sur des réactions de coloration.
- Soit sur les deux (précipitation + coloration).

# Chapitre 2 - Matériel et Méthode

*Melia Azedarach* c'est une espèce très présente en Algérie. Mais elle n'a pas la place méritée ce chapitre est pour le but de valoriser cette plante ceci par :

L'extraction d'huile végétale *Melia Azedarach*.

L'huile essentielle de la pulpe de fruit.

L'extrait brut de la pulpe.

Le calibrage phytochimique de l'extrait brut.

Etude physico-chimique d'huile de graine de *Melia Azedarach*.

Evaluer les effets microbiologiques et la pharmacotoxicologie de nos extraits.

## II.1 Matériels :

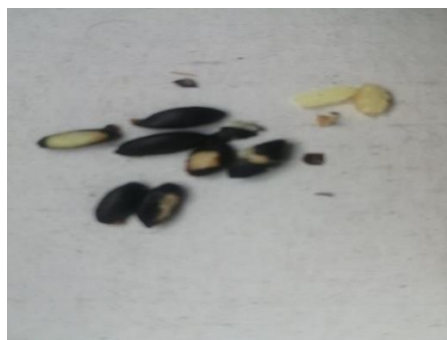
### II.1.1 Matériels non biologique :

L'ensemble de verreries utilisés, appareillages et réactifs se trouvent dans l'Annexe I.

### II.1.2 Matériel biologique :

- a- **Matériel animale** : Les souris NMRI.
- b- **Des souches bactériennes et des levures.**
- c- **Matériel végétal** : le fruit de *Melia Azedarach*

Nous avons travaillé sur les graines de *Melia Azedarach* riches en huile grasse qui possède des propriétés insecticides ainsi que des vertus thérapeutiques et la pulpe de fruit.



Figure

II.1.a la pulpe de *Meli Azedarache* Figure II.1. b les graines de *Melia Azedarach*  
(Photo originale,2020) (Photo originale,2020)

## II.2. Les méthodes :

### II.2.1 Traitement préliminaire de la plante *Melia Azedarach* :

#### a- Récolte :

Les fruits de *Melia Azedarach* ont été récoltés à l'enceinte de la faculté de science de vie, Université Saad Dahlb, à la fin du mois de décembre 2019. Ces fruits ont été décortiqués, séchés et conservés jusqu'à leur utilisation. Nous avons utilisé une quantité approximative de 5 Kg de fruits.

#### b- Décorticage :

Les 5 kg de fruits ont été épluchés puis décortiquées pour obtenir 1kg de graines.

#### c- Séchage :

Les graines et la pulpe ont été séchées à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température variante entre 25C° et 30C° étalées en une seule couche afin d'éviter les superpositions et ce pendant trois semaines.

#### d- Pesée :

Une balance analytique de précision de marque SARTORIUS a été utilisée, 1kg de graines et 1.5kg de pulpe qui constitue le matériel végétal prêt à être soumis à l'extraction de l'huile végétale.



**Figure II.2** Photos de fruit de *Melia Azedarach*.

### **II.2.2 Extraction d'huile essentielle (HE) de la pulpe :**

#### **Mode opératoire :**

L'extraction des huiles essentielles à partir de la pulpe du fruit de *Melia azedarach* a été effectuée avec une machine type Clevenger 3 fois de moyenne de 100g de fruits .

À chaque extraction, on a introduit la quantité indiquée de pulpe de fruits secs dans un ballon en verre contenant une quantité suffisante d'eau distillée sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition. On chauffe le mélange à l'aide d'un chauffe-ballon à ébullition jusqu'à 2h.

### **II.2.3 Extraction d'huile végétale (HV) de *Melia Azedarach* :**

La méthode utilisée pour l'extraction de l'huile végétale de *Melia Azedarach* est la méthode par pression mécanique. Nous avons utilisé 1 kg de graines.



**Figure II.3** L'extracteur.

L'extraction se fait par un vérin puissant qui écrase les graines disposées dans une chambre de compression munie de deux orifices, le premier permet l'écoulement de l'huile et l'autre la sortie du tourteau. Cette presse fournit une pression de l'ordre de 400-500 bars. On l'utilise pour des productions de faible tonnage, généralement pour des huiles de valeur exemple : huile de lin (**Anonyme4**).

### **II.2.4 Filtration stérilisante de l'huile :**

Afin d'avoir une huile pure sans impureté, une étape de filtration a été nécessaire. La filtration stérilisante est réservée au traitement des liquides et essentiellement utilisée dans l'industrie pharmaceutique. Cette technique est l'idéal pour préserver les composés actifs de l'huile. (**Leyral curry et al, 1998**).

#### **• Mode opératoire :**

Sous une hotte à flux laminaire, on prélève à l'aide d'une seringue stérile 5ml d'huile brute, cette huile est injectée à travers un filtre stérile (MILLEX-FG) de 0.2µm qui est monté sur un flacon en verre stérile de 10 ml afin de récupérer le filtrat. L'opération doit être répétée plusieurs fois jusqu'à stérilisation du volume total de l'huile.

### **II.2.5 Rendement R en huile :**

Il est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile végétale obtenue et la masse de la matière végétale utilisée (**Carrée., 1953**).

Le calcul du rendement se fait selon la formule suivante :

$$R\% = \frac{M1 \times 100}{M2}$$

M1 : Masse de l'huile en gramme.

M2 : Masse totale des graines en gramme.

### **II.2.6 Identification des caractères organoleptiques :**

Une observation à l'œil nu nous permet de définir les propriétés organoleptiques de notre huile à savoir la couleur, l'odeur et l'aspect.

### **II.2.7 Etude des caractères physico-chimiques de l'huile de graines de Melia Azedarach :**

#### **a- Etude analytique :**

Chaque huile est caractérisée par des constantes physico-chimiques qui servent d'indice de qualité et permettent de donner une idée sur la composition des huiles. Une étude qualitative et comparative, afin d'évaluer sa conformité aux normes internationales établies par les organismes de normalisation tel que : « l'association française de normalisation » (AFNOR) ou « organisateur standard international » (ISO).

#### **c- Analyse des constantes physico-chimiques :**

Les normes d'AFNOR définissent deux types d'indice :

- Indice physique.
- Indice chimique.

### **II.2.8 Indice physique :**

#### **c- La densité relative (D<sub>20</sub>) (AFNOR NFT 75-111) :**

La densité de l'huile est donnée par la formule suivante :

$$D_{20} = \frac{M2 - M0}{M1 - M0}$$

M1 : Masse en gramme d'eau distillée.

M2 : Masse en gramme d'huile.

M0 : Masse en gramme en vide.

D<sub>20</sub> : la densité de l'huile à la température 20°.

#### **d- Indice de réfraction à 20°C (AFNOR NET 75-112) :**

Cet indice est déterminé par la lecture à l'aide d'un réfractomètre par l'utilisation de la lumière diffusée du jour, elle est donnée par l'expression.

$$N_{\Delta} = N^t \Delta + 0,0004^t X^{(t+t')}$$

Où :

N<sub>Δ</sub> : valeur de lecture obtenue à température t' à laquelle la détermination a été effectuée.

t' : température à laquelle l'analyse a été effectuée.

t : température de référence 20°.

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus d'angle d'indice, et celui du rayon lumineux de longueur d'onde déterminée.

(Pharmacopée Européenne, 2001).

#### **• Mode opératoire**

Le produit est placé à l'aide d'une pipette dans la cellule de mesure du réfractomètre jusqu'au trait de signal. La cellule est fermée à l'aide d'un couvercle. Après stabilisation du réfractomètre à la température de 20°C en appuyant sur le bouton mesure pendant 15 secondes.

### **II.2.9 Indices chimiques :**

#### **a- Indice d'acide :**

L'indice d'acide est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyle de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres présents dans un gramme de substance.

- **Mode opératoire**

10g d'échantillon à analyser sont dissous dans 50ml de mélanges égaux d'alcool et d'éther. Après neutralisations du solvant par l'hydroxyde de potassium 0,1M, en présence de 0,5ml de solution de phénolphthaléine. Un titrage est réalisé à l'hydroxyde de potassium 0,1M jusqu'au virage de la couleur en rose.

L'indice d'acide (IA) est exprimé selon la formule suivante :

$$IA = 5.61 * n/m$$

n : volume de KOH, 0,1M consommé.

m : la masse de substance a examiné.

- **b- Indice de saponification (Is) :**

L'indice de saponification est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libres et la saponification des esters présents dans un gramme de substance.

- **Mode opératoire**

Dans une fiole de 250ml en verre et munie d'un réfrigérant à reflux, 2 g de l'huile à tester sont introduits avec 25 ml d'hydroxyde de potassium alcoolique à 0,5M avec quelque bille de verre. La fiole contenant les solutions est placée au-dessus d'un réfrigérant à reflux pendant 30 minutes. 1ml de la solution de phénolphthaléine est ajouté par la suite suivie par un titrage à l'acide chlorhydrique à 0,5M (N1 ml d'acide chlorhydrique 0,5M).

Un essai à blanc est effectué afin d'évaluer et de comparer les résultats obtenus avec ceux de l'huile testée dans les mêmes conditions.

L'indice de saponification (Is) est exprimé selon la formule suivante :

$$I_s = 28.05(N2 - N1)/m$$

Où

N : La normalité

m : masse de la substance en mg.

- **c- Indice d'ester (IE) :**

L'indice d'ester est le nombre qui exprime en milligramme la quantité d'hydroxyde de potassium nécessaire à la neutralisation des acides libérés par hydrolyse des esters contenus dans 1g d'huile.

Il est calculé à partir de l'indice de saponification (IS) et l'indice d'acide (IA)

$$IE = I_s - IA$$

(Pharmacopée européenne, 2001).

## **II.2.10 L'analyse Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/MS :**

C'est une méthode séparative qui permet d'analyser quantitativement des mélanges de gaze ou de composées qui peuvent êtres volatilisés sans être décomposé (Grout., 2000).

Dans toute méthode deux phase non miscibles, l'une fixe dite phase stationnaire, l'autre on mouvement dite phase mobile.

- **Principe :**

Le fonctionnement de la CG-MS repose sur l'action d'un champ électromagnétique sur une particule chargée.

Un couplage chromatographie –spectrométrie de masse consiste à réaliser un appareillage permettant de réunir en série plusieurs sous ensemble, traversées successivement par les échantillons à analyser (Bouchoux G. Sablier S.,1997).

La CG-MS utilisé pour l'analyse de notre échantillon est de type Perkin Elmer Tubomass Glod. Les échantillons d'huile sont analysés dans les conditions opératoires suivantes :

- **Condition opératoire :**

**Tableau II.1 Conditions opératoires de la CG/MS.**

<b>Passeur d'échantillon</b>	<b>Automatique</b>
<b>Volume injecté</b>	1 $\mu$ l
<b>Gaz vecteur</b>	Hélium
<b>Colonne utilisé</b>	Elite-5ms (longueur 30 m, diamètre 0.25 $\mu$ m)
<b>Température d'injection</b>	250°C
<b>Température de la ligne de transfert</b>	200°C
<b>Programmation de la température de la Colonne</b>	Température initiale 100°C pendant 0.5mn Rampel : 8°C/mn 290°C pendant 20mn
<b>Conditions de la SM</b>	
<b>Mode d'ionisation</b>	Impact électronique
<b>Potentiel d'ionisation</b>	70ev
<b>Température de la source</b>	200°C
<b>Balayage en scan (m/z)</b>	20-470 UMA

### II.2.11 L'analyse par le Spectrophomètre Infra-rouge :

- **Principe :**

Les spectrophotomètres infrarouges sont adaptés aux mesures du spectre dans la région de 4000  $\text{cm}^{-1}$  à 670  $\text{cm}^{-1}$  ou éventuellement jusqu'à 200  $\text{cm}^{-1}$ . Les spectrophotomètres à transformée de Fourier utilisent un rayonnement polychromatique. Ils effectuent le calcul du spectre dans le domaine de la fréquence à partir des données obtenues, par transformée de Fourier.

Les spectrophotomètres munis d'un système optique susceptible de fournir un rayonnement monochromatique dans la région de mesure peuvent également être utilisés. Le spectre est généralement présenté en fonction de la transmittance, c'est-à-dire, le rapport de l'intensité du rayonnement transmise à celle du rayonnement incident.

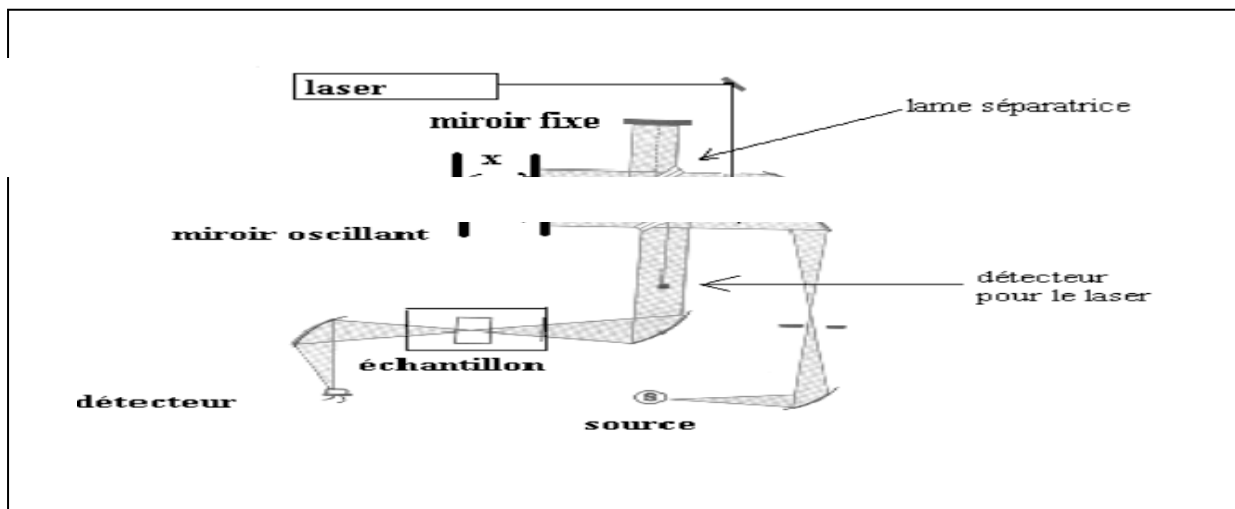
- **Fonctionnement :**

La source émet un rayonnement polychromatique (lame séparatrice qui envoie une partie du faisceau vers un miroir fixe, l'autre vers un interféromètre de Michelson miroir mobile oscillant). Après réflexion, l'onde réfléchie par le miroir fixe et l'onde réfléchie par le miroir oscillant est transmises vers l'échantillon.

Puisque la différence de marche entre ces ondes a été variable dans l'interféromètre de Michelson, elles interfèrent de façon variable au cours du temps : pour chaque longueur d'onde, on a alternativement des interférences constructives et des interférences destructives.

L'échantillon reçoit toutes les longueurs d'onde de la source mais ne les transmet pas de la même façon.





**Figure II.4 Schéma descriptif d'un spectrophotomètre infrarouge.**

- **Mode opératoire :**

Examinez un liquide sous la forme d'une pellicule maintenue entre 2 plaques (fenêtres) transparentes aux rayons infrarouges ou dans une cuve d'une longueur de parcours appropriée, également transparente aux rayons infrarouges.

### II.2.12 l'évaluation de la toxicité de l'huile de *Melia Azedarach* :

- **Méthode Up and Down :**

**Principe :**

Afin d'éviter la consommation de beaucoup d'animaux dans de nombreuses tentatives préliminaires, la méthode Up and Down est l'Idéal. Pour cela il faut injecter le produit à tester avec une dose arbitraire à 2g/kg.

L'observation se fait de 2h de 48h, si les souris sont mortes, la DL50 est nécessairement inférieur à cette valeur. On refait l'essai avec une dose égale à la moitié de la première.

- **Matériel animal :** souris NMRI mâles et femelles adultes pesant environ 20g
- **Matériel végétale :** huile des graines de *Melia Azedarach*.

- **Mode opératoire :**

On administre par gavage 0.5 ml d'huile diluée dans le l'eau distillé (0,14ml de HV +1,4ml de H2O distillé) pour chaque souris, La préparation de la dose se trouve dans (**Annexe III**).

- **Le gavage :**

Le gavage doit être réalisé selon la technique suivante :

- Les oreilles des souris sont maintenues entre la pousse et l'index.
- La queue est tirée vers le bas pour permettre au corps de la souris de bien se poser sur la paume de main.
- Avec les autres doigts, on immobilise la souris.
- A l'aide d'une seringue dont l'aiguille est truquée disposant d'un bout en boule troué sur le côté, on administre la dose d 'huile par la voie buccale.

Le résultat de la durée du suivie est donné entre 2h à 48h.

### II.2.13 Étude de l'activité antimicrobienne de l'huile de *Melia Azedarach*.

L'étude de l'activité antimicrobienne s'effectue avec 3 méthodes différentes en utilisant les mêmes souches de bactéries et de levure pour chacune. Ces méthodes sont :

- Méthode aromatoigrammes.
- Méthode micro atmosphère.
- Méthode par dilution.

- **Matériel biologique :**

**Les souches bactériennes :** les souches indiquées sont citées selon les travaux précédent.

- *Staphylococcus aureus* ATCC25923 (Gram+).
- *Staphylococcus foecium* (Gram<sup>+</sup>).
- *pseudomonas aeruginosa* (Gram<sup>+</sup>).
- *Escherichia coli*. ATCC2922 (Gram-).

**Souche de levures :** - *Candida Albicans*. ATCC2091.

**d- Méthode de l'aromatogrammes :**

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie médicale, appelée antibiogramme. Elle a l'avantage d'être d'une grande souplesse dans le choix des produits à tester et de s'appliquer à un grand nombre d'espèces bactériennes (**De Biller Beck et al., 2002**).

Dans cette méthode, nous utilisons des disques de papier filtre de 9 mm de diamètre, imprégnés d'HV. Nous déposons ces disques à la surface d'un milieu gélosé préalablement ensemencé en stries par une suspension bactérienne.

L'incubation est faite dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 5 jours pour les levures.

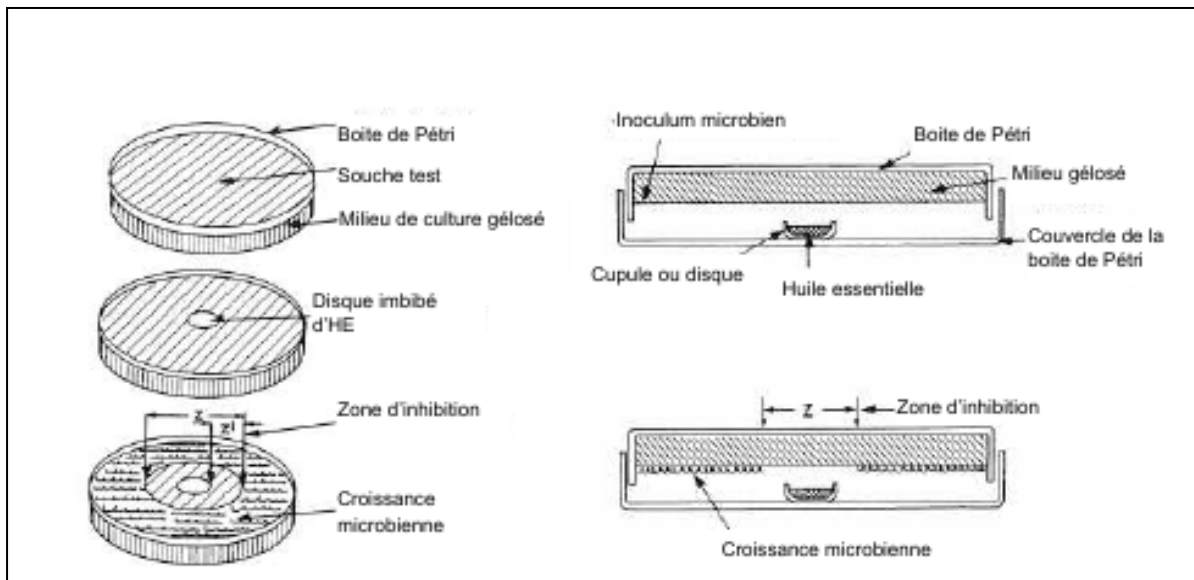
L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre.

**e- Méthode de la micro atmosphère :**

La différence entre cette méthode et les aromatogrammes réside dans la position du disque imprégné. Cette technique permet de mettre en évidence la capacité de diffusion des composés volatils des HV à l'intérieur d'une boîte de Pétri (**De Billerbeck et al., 2002**).

Le disque imprégné est déposé au centre du couvercle de la boîte de Pétri qui est renversée pendant la durée de l'expérience. Celui-ci n'est donc plus en contact avec le milieu gélosé.

La boîte est fermée avec le couvercle en bas et mise à l'étuve. L'incubation est réalisée dans les mêmes conditions qu'en aromatogramme. L'absence de la croissance microbienne se traduit par une zone translucide.



**Figure II.5.a** Illustration de la méthode des aromatogrammes

(De Billerbeck et al, 2002).

**Figure II.5.b** Illustration de la méthode de la micro- atmosphères

(De Billerbeck et al, 2002).

#### **f- Méthode par dilution :**

Dans cette méthode, on utilise des disques de papier filtre de 9 mm de diamètre, imprégnés d'HV dilué dans le myristate (dont la dilution se fait par 1ml d'huile de margousier avec 1ml de myristate). On dépose ces disques à la surface d'un milieu gélosé ensemencé en surface à l'aide d'une suspension bactérienne.

L'incubation est faite dans une étuve à 37°C pendant 24 h pour les bactéries et à 25°C pendant 5 jours pour les levures.

L'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre.

- **Expression des résultats**

La mesure du diamètre des halos d'inhibition est souvent transcrite dans différents symboles proportionnels à l'activité.

**Tableau II.2 Transcription des diamètres d'inhibition des disques imprégnés.**

<b>Diamètres de la zone d'inhibition</b>	<b>Transcription</b>	<b>Sensibilité du germe</b>
<b>0</b>	<b>0</b>	<b>Résistant</b>
<b>0.5 cm</b>	<b>±</b>	<b>Peu sensible</b>
<b>1 cm</b>	<b>+</b>	<b>Sensible</b>
<b>2 à 3 cm</b>	<b>++</b>	<b>Assez sensible</b>
<b>&gt; 3 cm</b>	<b>+++</b>	<b>Très sensible</b>

# Chapitre 3 - Résultat et discussion

Vue la situation pandémique Durant notre travail nous avons obtenus les résultats suivants :

### III.1 Résultat d'extraction de l'huile :

#### III.1.1 Rendement de l'huile :

Après extraction de l'HV de *Melia Azédarach* par pression, nous avons calculé le rendement de notre huile qui est de **9,2%**.

Un faible rendement comparé le rendement d'extraction par soxchlet et première pression à froid d'autres travaux de même on note une perte en huile lors de la filtration.

#### III.1.2 Les caractéristiques organoleptiques :

Les résultats des caractéristiques organoleptiques sont représentés dans le tableau III.1 :

**Tableau III.1 résultats des caractéristiques organoleptique de *Melia azédarach*.**

Caractéristiques Organoleptiques d'Huile des graines de <i>Melia Azedarach</i>			
Odeur	Couleur	Aspect	Toucher
Forte, très caractéristique, acidulée, rappelant l'oignon grillé ou le café torréfié	Jaune doré	Liquide	Sec, pénètre rapidement sans laisser de film gras

L'huile de *Melia azédarach* obtenue après extraction par pression présente l'odeur de l'oignon grillé, une couleur jaune, est un aspect liquide mobile mais susceptible de devenir trouble après refroidissement. Ceci est probablement est due à la présence de matière grasse.

En effet selon Hurltel (2007), l'huile de *Melia Azédarach* est très riche en acides gras tel que l'acide palmitique, l'acide stéarique, l'acide oléique qui représentent 13% à 15%, 15 à 19%, et 50 à 62% de la teneur totale en matière grasse, respectivement.

#### III.1.3 Analyse des caractères physico – chimique de l'huile de végétale de *Melia Azedarach* :

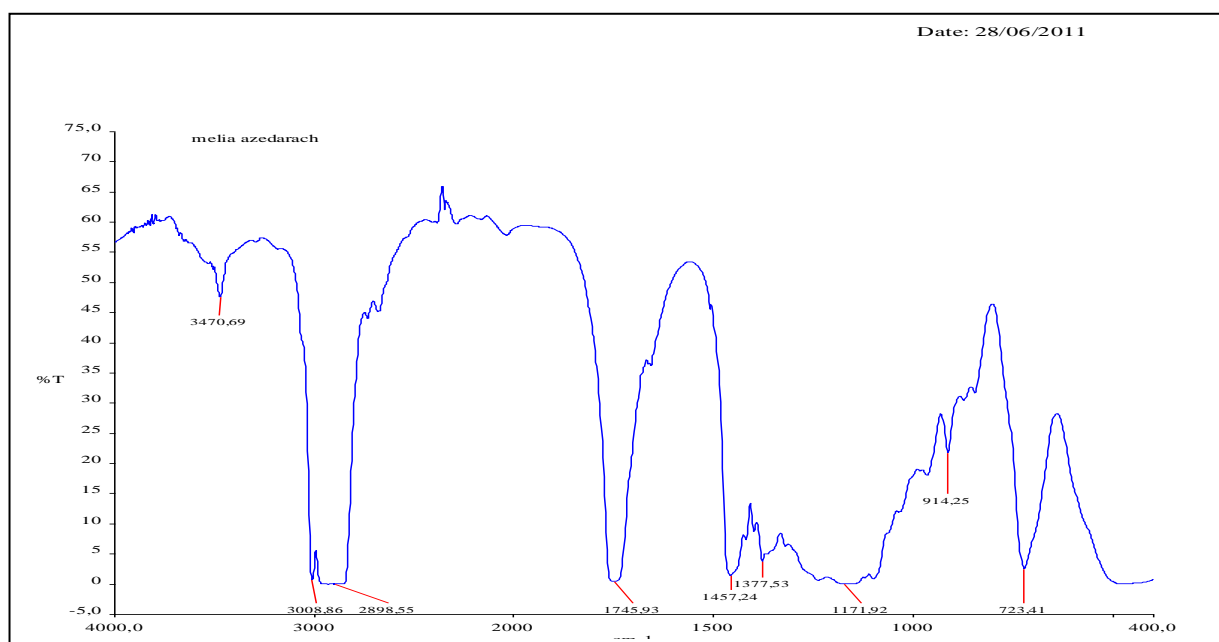
Les résultats de l'analyse des caractères physico –chimiques de l'huile végétale *Melia Azedarach* concordent avec les normes AFNOR, elles sont présentées dans le tableau III.2.

**Tableau III.2 es résultats de l'analyse des caractères physico –chimique de l'huile de *Melia Azedarach* selon les normes AFNOR.**

Les Paramètres	<i>Melia Azedarach</i>	AFNOR
Densité relative	0.92	0.93
Indice de réfraction	1.474	1,4570 à 1,4810
Indice d'acidité	0,56	0.58
Indice de saponification	191.9	170-210
Indice d'ester	191.91	

### III.1.4 Les résultats de l'analyse de l'huile de *Melia Azedarach* par infrarouge :

Les résultats de l'analyse de l'huile de *Melia Azedarach* par infrarouge est représenté dans la (figure III.1).



**Figure III.1** Graphe de résultat de l'analyse par spectrophotomètre infrarouge.

L'analyse du spectre IR de la substance étudiée permet de distinguer un premier pic  $3008.86 \text{ cm}^{-1}$  de vibration à C-H relatif au groupe méthyle ( $=\text{C-H}$ ) si, le 2<sup>ème</sup> pic à  $2935\text{-}2898.55 \text{ cm}^{-1}$  spécifique pour la vibration C-H du groupe méthyle ( $-\text{CH}_3$ ).

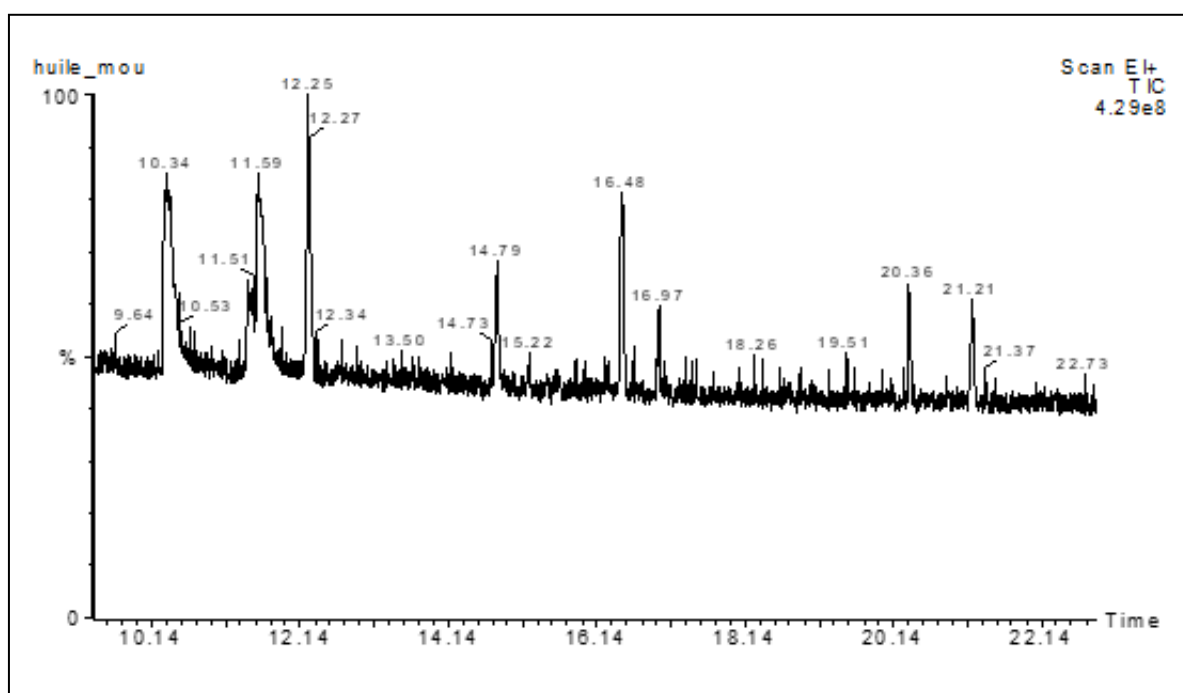
Le pic situé à  $1745.93 \text{ cm}^{-1}$  est dû à la vibration du groupement carbonyle ( $\text{C}=\text{O}$ ). Les autres pics restants situés en dessous de  $1500 \text{ cm}^{-1}$  forment l'empreinte digitale de la molécule et sont essentiellement des déformations des liaisons C-C et C-H.

Donc le spectre IR permet de dire qu'il s'agit probablement de dérivés d'acides carboxyliques.

Ces résultats nous indiquent que l'huile végétale est très riche en fonction carboxylique et ne possède pas d'autre fonction biochimique comme les esters, cette richesse en groupement carboxylique signifie que notre huile est très riche en acide gras. Comme il a été cité dans la bibliographie par (Lavoisier., 1995).

### III.1.5 L'analyse Chromatographie en Phase Gazeuse couplée à la Spectrométrie de Masse GC/MS :

**Figure III.2** Chromatogramme de l'HV de *Melia Azedarach* analysée par CG-MS.



D'après analyse du chromatogramme, nous avons soumis quelques pics à une spectrophotométrie de masse.

Les résultats obtenus ne permis pas d'identifier les acides gras contenus dans l'HV de *Melia Azedarach* et ce en raison de la destruction totale des fonction carboxyliques par la CG.

En conséquence les composés non pas pu être déterminer qu'un seul composé correspondant au pic 10,34 mn qui est le (AnnexeIV). Ce composé est le Benzenpropanal- $\alpha$  méthyle.

Il aurait fallu passer par une étape de méthylation avant de soumettre l'extrait à la chromatographie.

Selon la bibliographie, L'huile étudiée est constituée principalement d'acides gras insaturés, l'acide oléique et l'acide linoléique qui représentent une teneur totale de près de 90%. La richesse en acide linoléique, soit environ 70% de plus, avec un faible taux de 10% d'acides gras saturés constitués par l'acide palmitique et l'acide stéarique.

L'analyse d'huile de melia a été effectué par CPG dans l'ensemble des travaux consultés (Tableau III.3).

**Tableau III.3 la composition en acide gras de *Milia Azedarach* avec CPG.**

	China	Egypt	Madagascar	Maroc
<b>Acide palmitique</b>	7,17	6,77	6,90	6,7 $\pm$ 0,73
<b>Acide linoléique</b>	62,47	67,17	69,97	18,9
<b>Acide stéarique</b>	4 ,16	6,83	3,20	3,3
<b>Acide oléique</b>	25,72	15,16	19,93	18,9

### III.2 l'évaluation de la toxicité de l'huile de *Melia Azedarach* :

Les résultats de l'évaluation de la toxicité de l'huile de *Melia Azedarach* sont représentés dans (le tableau III.4).

**Tableau III.4 Les résultats de l'évaluation de la toxicité :**

Echantillon	Dose g/kg	Nombre de souris utilisé	Résultats après 48h		Pourcentage de mortalité
			Souris Mortes	Souris Vivantes	
<b>Huiles végétales de <i>Melia Azedarach</i></b>	2.00	03	00	03	00

Selon les résultats du tableau d'après indiquent que l'huile végétale de *Melia Azedarach* n'est pas toxique par contre dans la bibliographie indique que les fruits de de *Melia Azedarach* est toxique.

### III.3 Résultats d'extraction d'huile de la pulpe :

L'extraction de l'huile essentielle à partir de la pulpe de fruit de *Melia Azedarach* par Clevenger a montré les résultats suivants :

Extraction 1 : une trace d'huile essentielle.

Extraction 2 : résultat négative.

Extraction 3 : résultat négative.

L'extraction par hydrodistillation avec l'appareil cl venger a donné des résultats négatifs.

Vue qu'il n'y a pas beaucoup de travaux sur la pulpe, donc c'est résultat peut être exprimé soit : le temps d'ébullition qui est insuffisant, ou la distillation par solvant avec l'appareil soxhlet est la méthode la plus fiable.

### III.4 L'extrait brut de la pulpe :

#### III.4.1 Principe de l'extraction solide-liquide :

Nous avons appliqué le type d'extraction solide-liquide, dont le principe général est le transfert de matière de la phase solide (poudre de plante : feuilles, pulpes, amandes) à la phase liquide (le solvant).

Ce transfert a été réalisé de deux manières : - soit par simple contact de la matière végétale avec le solvant. Ce transfert est appelé la macération,

- Soit par contacts répétés avec du solvant renouvelé, dans une opération qui fonctionne en continu (extraction au Soxhlet).

**Objectif :** identification de composé actif de la pulpe de fruit de *Melia Azédarach*.

Préparation des extraits bruts (200±1) g de poudre de pulpes séchées macérer successivement dans 450 ml d'éther de pétrole pendant 3 jours, puis dans 400 ml de dichlorométhane pendant 2 jours (2 fois), ensuite dans 500 ml d'acétate d'éthyle pendant 2 jours (2 fois) et à la fin dans 500 ml de méthanol 80% pendant 2 jours (2 fois). Chaque extrait est filtré sur bûcher à l'aide d'une pompe à vide.

Les filtrats évaporer sous pression réduite avec un évaporateur rotatif. Avant chaque changement de solvant, séchage de marc à l'air libre puis réintroduire dans le flacon pour une nouvelle macération. Le rendement r (%) est calculé à partir de l'équation :

$$r(\%) = \frac{\text{Masse d'extrait brut}}{\text{Masse de poudre utilisée}} * 100$$

**Tableau III.5 Résultat des extractions.**

Organe de la plante	Masses de la plante (±1g)	Extraits	Volumes des Filtrats (±10-2l)	Masses des extraits (±10-4g)	Rendement (%)
Pulpe	200	Ether de pétrole	0,33	3,8636	1,93
		Dichloro méthane	0,55	5,0482	2,52
		Acétate d'éthyle	0,45	2,6580	1,33

Les différents extraits ainsi ont été soumis au criblage phytochimique.

#### III.4.2 Criblage phytochimique :

Le criblage phytochimique est la première étape de l'étude chimique, a été effectué afin de déceler les différentes classes chimiques naturelles contenues dans l'échantillon telles que : Triterpènes et Stéroïdes, Flavonoïdes, Leuco anthocyanes, Alcaloïdes, Tanins et Polyphénols, Composés réducteurs, Coumarines, Saponosides et Polysaccharides selon la règle de CIULEI, 1982 et FONG et FARNSWORTH, 1977. Le criblage est basé : soit sur des réactions de précipitation, - soit sur des réactions de coloration, - soit sur les deux (précipitation + coloration) La méthode est donnée dans le tableau III.6.



**Tableau III.6 Description succincte des méthodes utilisées lors du criblage phytochimique.**

<b>Familles chimiques</b>	<b>Solvants des tests</b>	<b>Tests</b>	<b>Réactifs</b>	<b>Réactions positives</b>
<b>Terpenoïdes</b>	Dichloro méthane	Liebermann Burchard	3 à 4 gouttes de (CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O +3 à 4 gouttes de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> cc	Coloration pourpre
<b>Stéroïdes</b>	Dichloro méthane	Salkowski	3 à 4 gouttes de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> cc +tube incliné de 45°	Coloration rouge de l'anneau
<b>Flavonoïdes</b>	Ethanol 80%	Wilstater	0,5 mL de HCl cc + tournures de Mg	Coloration rouge ou rouge à pourpre ou violacée
<b>Leucoanthocyane</b>	Ethanol 80%	Bate-Smith	0,5 mL de HCl cc + bain marie 30 mn + refroidissement	Coloration rouge violacée
<b>Alcaloïdes</b>	Acide chlorhydrique 10%	Mayer Dragendorff Wagner	HgCl <sub>2</sub> /KI  Bi(NO <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> /KI  I <sub>2</sub> /KI	Précipitation blanche Précipitation orange Précipitation orange
<b>Tanins</b>	Eau distillée		4 à 5 gouttes de gélatine 1% + NaCl 10% + FeCl <sub>3</sub> 10% dans MeOH	Précipitation bleuâtre Précipitation verdâtre
<b>Saponosides</b>	Eau distillée	Mousse Hémolytique	Agitation dans un tube à essais 4 à 5 gouttes de sang frais	Hauteur de mousse persistante Changement de coloration
<b>Quinones</b>	Eau distillée		Mélange étheré/CHCl <sub>3</sub> 3/1 + décantation avec 3 mL NH <sub>4</sub> OH + observation à la lampe UV de la phase alcaline	Coloration violacée
<b>Composés réducteurs</b>	Eau distillée	Oxydo-Réduction	Liqueur de Fehling (I + II)	Coloration rouge
<b>Coumarines</b>	Eau distillée Chaude		0,5 mL NH <sub>4</sub> OH 10% Lampe UV	Fluorescence bleue

### III.5 Résultat des tests antimicrobiens :

#### III.5.1 Les résultats de l'activité anti microbienne d'huile de *Melia Azedarach* :

L'activité antimicrobienne d'HV de melia azédarach, effectuée par 3 méthodes différentes (aromatogramme, micro atmosphère et dilution), a été testée sur des souches microbiennes de références ont été utilisées dans ce test. Les résultats de ce screening sont consignés dans le tableau III.7.

**Tableau III.7 l'activité antimicrobienne et antifongique de l'HV.**

	Aromatogramme (mm ± ET)	Microatmosphère (mm ± ET)		Dilution (mm±ET)	Sensibilité du germe
Souches bactériennes					
<i>Staphylococcus aureus</i>	00	00		00	Résistant
<i>Staphylococcus foecium</i>	00	00		00	Résistant
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	00	00		0.5±00	Peu sensible
<i>Escherichia coli</i>	00	00		00	Résistant
Souches de levures					
<i>Candida Albicans</i>	00	00		00	Résistant

Cette lecture nous permet de dire qu'il n'y a pas de zones d'inhibitions sauf pour la souche *Pseudomonas Aeruginosa* qui a marqué une très petite zone d'inhibition de 0.5 mm.

Alors que selon (Biswas et al., 2002) l'huile extraite des graines de *Melia Azedarach* a un large spectre d'activité anti bactérienne vis –à-vis les souches Gram+ et Gram-. Le Nimbolide, Gédunine et Mahmoodine sont les composants responsables de cette activité.

Cette absence d'action est due soit : -Aux bactéries utilisées qui sont multirésistantes et ne répondent pas à l'action de l'huile végétale.

A la quantité de principe actif qui dépendrait selon (Biswas et al., 2002), à l'âge des graines, la période de récolte et les conditions de stockage :

Des recherches récentes montrent que l'huile de *Melia Azédarach* est très sensible à la lumière et la température et que la technique d'encapsulation semble efficace pour conserver les composés actifs de cette huile pour l'application biologique selon Flavia Manuella R. Met al., en 2019.

#### III.5.2 Analyse de l'activité anti bactérienne des extraits de pulpe :

La méthode utilisée est la méthode de diffusion dit aussi aromagramme. Le pouvoir actif du produit est proportionnel au diamètre de la zone d'inhibition. Une concentration unique de 10 mg/ml de chaque extrait a été prise. Le test est répété 5 fois (n=5) Le prélèvement, l'isolement et l'identification des différentes espèces de microorganisme d'étude.

### III.8 Tableau de l'activité anti bactérienne des extraits de pulpe :

Microorganisme	Diamètre de la zone d'inhibition par produit (mm)			
	EP	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	AcOEt	MeOH
<b>Staphylococcus aureus</b>	00	10	8	16
<b>Escherichia coli</b>	00	00	8	14
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	00	00	8	10
<b>Proteus vulgaris</b>	00	00	8	12

Excepté l'extrait à l'éther de pétrole qui a une activité négative les souches et l'extrait méthanol qui présente une activité sur les *Staphylococcus aureus*, les différents extraits obtenus à partir de la pulpe ont une activité positive sur les quatre souches utilisées pour le test à la concentration unique de 10 mg/ml.

Selon **A Sen *et al* en 2012** avec différentes techniques ont obtenu les résultats identiques.

Conclusion

## CONCLUSION :

Notre étude s'est axée sur l'étude d'un extrait de la plante *Melia Azedarach* et de leurs effets antibactériens et leurs toxicités en vue de la revalorisation des plantes à caractère thérapeutique utilisées en Algérie. Les résultats ont été discutés par rapport aux résultats des travaux précédents. L'huile végétale de *Melia Azedarach* a été obtenue par la méthode de pression mécanique au niveau de la chambre d'artisanat à Blida.

L'étude physico-chimique de notre huile s'est avérée en conformité avec les normes AFNOR avec un rendement de 9,4 %. Les résultats de la spectrophotométrie infrarouge ont montré que notre huile est riche en acide gras.

L'extraction de l'huile essentielle à partir de la pulpe n'a révélé aucun résultat positif.

Les résultats obtenus de l'analyse par la CG-MS ne nous ont pas permis d'identifier les acides gras contenus dans l'huile végétale de *Melia Azedarach* et ce en raison de la destruction totale des fonctions carboxyliques par la CG. Un seul composé correspondant au temps de rétention 10,34 mn a pu être identifié qui est le Benzenpropanal- $\alpha$ -méthyle.

Par contre les analyses avec CPG montrent la présence des acides gras suivantes : acide linoléique, acide palmitique, acide stéarique, acide oléique.

Le criblage phytochimique a révélé la présence de triterpénoïdes et de leucoanthocyanes dans la pulpe.

L'estimation de l'activité antibactérienne de l'huile végétale de *Melia Azedarach* sur différentes souches bactériennes par différentes méthodes n'a révélé aucun résultat positif.

Ces résultats sont dus soit à la multi-résistance des souches ou à la dégradation des composés qui doivent être protégés de la lumière et de la température, l'encapsulation est une technique fiable pour une bonne conservation d'huile selon des méthodologies récentes telles que l'encapsulation dans PHBV, par SFEE (Flavia Manuella R. Mendonça, 2019).

Les extraits bruts (éther de pétrole, dichlorométhane, acétate d'éthyle, méthanol) ont été testés sur les microorganismes tels que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Proteus vulgaris*. Les extraits obtenus avec l'acétate d'éthyle et le méthanol présentent des résultats positifs sur les quatre souches. Les moyennes des diamètres d'inhibition observés sont respectivement 8 mm, 14 mm et 20 mm.

L'étude de toxicopharmacologie de l'huile sur les souris nous a permis d'obtenir des résultats encourageants.

L'étude de toxicopharmacologie d'extrait brut à partir de pulpe fera l'objet d'autres travaux.

À la lumière de ces résultats nous pouvons conclure que les extraits issus de *Melia Azedarach* sont des extraits de bonne qualité, non toxiques, riches en acide gras et à potentiel thérapeutique.

À cet effet *Melia Azedarach* constitue une plante qui pourrait offrir un haut potentiel économique à la fois dans son aspect thérapeutique et économique, il nous semble judicieux d'approfondir cette étude en abordant le volet bio-insecticide à intérêt domestique particulièrement dans la lutte contre les acariens de maison, et le volet de cosmétique.

## Références bibliographiques

1. **AFNOR, 1998** : -NFT75-111. -NFT75-112.
2. **Adrian J., R Fange, 1986** : Technique d'analyse nutritionnelle et de control dans l'industrie agroalimentaire.
3. **Abdelguerfi A, Ramdane MSA (2003)** : Évaluation des besoins en matière de renforcement des capacités nécessaires à la conservation et l'utilisation durable de la biodiversité importante pour l'agriculture. Projet ALG/97/G31. Plan d'action et stratégie nationale sur la biodiversité. Tome XI, p. 230.
4. **A.De Jussieu** : *Melia Azedarach* Linné , Caractères sylvicoles et méthodes de plantation. Description, agritrop.cirad.fr/443461/1/document\_443461.pdf.
5. **Anonyme1, 2001** : Larousse encyclopédie des plantes médicinales, identification, préparation ; soins.
6. **Anonyme 2, 2010** : Le guide des boutiques Bio. Bio-organic.over-blog.com.6
7. **Anonyme 3** : "Wikipedia, encyclopédie en ligne".  
[http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:Soxhlet\\_extractor.png](http://fr.wikipedia.org/wiki/Image:Soxhlet_extractor.png)
8. **Anonyme 4** : Wikipedia, encyclopédie en ligne"
9. **Anonyme 5** [https://fr.wikipedia.org/wiki/Melia\\_azedarach](https://fr.wikipedia.org/wiki/Melia_azedarach)  
[http://fr.wikipedia.org/wiki/huile\\_olive](http://fr.wikipedia.org/wiki/huile_olive).
10. **Aoudia H, Oomah BD, Zaidi F, Zaidi-Yahiaoui R, Drover JCG, Harrison JE., (2013)** Inter J App Res Nat Prod. 6 (2), 19-29.
11. **Azam MM, Mamun-Or-Rashid ANM, Towfique NM, Sen MK & Nasrin S:** Pharmacological potentials of *Melia azedarach* L. -A review. American Journal of Bio Science, 1(2) : 44-49 (2013).
12. **BAAZIZ Kahina et SLAMANI Nadira**, "Caractérisation physico chimique et activité antioxydante des huiles de *Melia Azedarach*", Thème de MASTER, Université A. MIRA – Bejaia, Année 2016.
13. **Balachovsky., As., 1951** : La lutte contre les insectes. Payot ; Paris.
14. **Ben Ghnaya A.,Hamrouni L.,Hanana M** :Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Melia azedarach*L.,Volume 11,Issue5,pp 284-288 (2013).
15. **Bedeven, 2006** : **1978 in Iddib z., Ourab S.,** : l'étude analytique de *Melia Azederach*, évaluation de son activité antimicrobienne et toxicité sur les abeilles. Mémoire fin d'étude d'ingénieur en biotechnologie végétale USDB, 2009-2010.
16. **Ben Ghnaya A.,Hamrouni L.,Hanana M.**,Notes ethnobotanique et phytopharmacologique sur *Melia azedarach*L.,Volume 11,Issue5,pp 284-288 (2013).
16. **Biauchinif., Corbettat F.,1975** : Atlas des plantes médicinales du monde réalités et Croyances Edit ESTEM Paris pp 636.
17. **Binninet., Jean Jaque, 2002** : Génie des procédés alimentaires, des bases aux applications.
18. **Biswas K., Bandyopahyay U., Banerjee R.K., and Chattopadhyay I., 2002:** Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Curr. Sci.*, 82, pp1336-1345.
19. **Bouchoux G., Sablier., 1997** : Spectrométrie de masse : principe et appareillage technique d'ingénieur Paris 2,645(1997).32P.43
20. **Boulous L., 1983:** Medicinal plants of North Africa, Edit, publication INC.Michigan; 613p.
21. **Boussard R., et Cuisance P., 1984** : Arbres et arbustes d'ornement des régions tempérées et méditerranéennes, 320 p.
22. **Brunetton J., 1993** : Pharmacognosie-photochimique plantes médicinales, 2ème EDIT. Lavoisier, Paris. Pp : 464.1
23. **Brosse, 2004** : Larousse des arbres (dictionnaire des arbres et arbustes) ;- Edition Larousse / S.E.J.E.R ,277p.
24. **Cabanis Y., Chabouis L., et Chabouis F., 1969** : Végétaux et groupement végétaux de Madagascar et des Mascareignes.TomeII, BDDA, Tannarive ,794p.
25. **Camus 1923** : Les arbres, arbustes et arbrisseaux d'ornement. Ed. Paul Lechavalier. Paris.ppxxl.

- 26. Carrée., 1953 in Fikiri B : formulation** et évaluation de la toxicité de deux biopesticide sur *Schistocerea gregaria* (cyrtacanthacridinae) et *mus musculus domesticus domesticus* (Muridés) mémoire fin d'étude d'ingénieur biotechnologie végétale USDB,2010.
- 27. Capinera J. L., Encyclopedia of Entomology:** Chinaberry, *Melia Azedarach* L. A Biopesticidal tree, Springer Science & Business Media, V4–p. 850 (2008).
- 28. Celiktas et al., 2007** Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations, ScienceDirect.
- 29. Chauvin R :** Sur la substance qui, dans les feuilles de *Melia Azedarach*, repousse les criquets. CR Acad. SCI Paris 222: 412–4 (1946).
- 30. Cropley T.G, Haseqawa G.R.** *Melia azedarach*: New potential for an old medicinal plant. J. Am. Acad. Derma. 2007 ; 52(2) : 366-367.
- 31. De Billerbeck et al., 2002 in Sidi moussa M., Boumlid S :** évaluation de deux plantes médicinales Géranium et Citronnelle, mémoire de fin d'étude d'ingénieur en biotechnologie végétale USDB 2011.
- 32. Dai J., Yaylayan V.A., Raghavan G.S.V., et al:** Extraction and colorimetric determination of azadirachtin-related limonoids in neem seed kernel. J Agric Food Chem 47: 3738–42 (1999).
- 33. Dhiman A.K:** Sacred Plants and their Medicinal Uses, Daya publishing House, Delhi. pp. 125-127 (2003).
- 34. Duranton F., Launois-Lunong M.H., et Lecog M, 1982a :** Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche. Ed. CIRAD/PRIFAS, Départ. G.E.R.D.A. T, Paris, T.II, 695 p.
- 35. Duranton J.F, Launois-Luong M.H. et Lecog M, 1982b,** Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche. Ed. CIRAD/PRIFAS, Départ. G.E.R.D.A. T, Paris, T.II, 1496p.
- 36. Flávia Manuella R. Mendonça, al., 2019 :** Encapsulation d'huile de graine de neem (*Azadirachta indica*) dans du poly (3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalérate) technique par la technique SFEE, Le journal des fluides supercritiques
- 37. Grout.,2000 :** Les analyses industrielles. Application gaz et liquides, Hermé science publication Paris,2000,320p 62-147.167p
- 38. Godofredo U., Stuart Jr:** Paraiso (*Melia azedarach* Linn.) family Meliaceae Philippine medicinal plants (2013).
- 39. Guinard J.L:** Botanique. Ed Masson, TI-297p (1994).
- 40. Handa S.S, Rakesh D.D, Vasisht K:** Compendium of medicinal and aromatic plants Asia Vol II.; 73-74 (2006).
- 41. Hurtel J.M., 2007 :** Nouveau magazine de phytomanie [WWW.phytomanie.com](http://WWW.phytomanie.com).
- 42. Harinavalona Andriantsitohaina Andriamisaodra , :** Etude de *Melia Azedarach* (Méliacée) de Madagascar en vue de sa valorisation, UNIVERSITE D'ANTANANARIVO, MEMOIRE DE FIN D'ETUDES MASTER II 2016.
- 43.Huang Y., Tan J.M., Kini R.M. et Ho S.H., 1997.** Toxic and antifeedant action of nutmeg oil against *Tribolium castaneum* (Herbst) and *Sitophilus zeamais* Motsch. J. Stored Prod. Res. 35, 289-298.
- 44. Hare W.R., Schumann H., Lee B.R. and Knight M.W:** Chinaberry (*Melia azedarach*) poisoning in two dogs. Journal of the American Veterinary Medical Association 210, 1638-1640 (1997).
- 45. Hajaniaina O.M., 1998 :** Projet DPV/JTZ « Promotion de la protection intégrée des cultures et des donerées stockées à Madagascar ».

**46. Italo Chiffelle G., Amanda Huerta F., and Diego Lizana R:** Physical and chemical characterization of *Melia Azedarach* L. Fruit and leaf for use as botanical insecticide, *chilean journal of agricultural research* 69 (1): 38-45 (2009).

**47. I.TROUP et JOHSHI, R. TROUP et H. JOSHI:** *The Silviculture of Indian Trees. Vol. III,* Claredon Press, Oxford, UK (1981).

**48. Jourdain D (1997)** Dictionnaire des plantes médicinales. In Les Quebecor (Ed). Québec, p. 195

**49. Kerharo.,1975 :** Etudes et adaptation des traitements traditionnels de médecine infantile en milieu rural Senegalien

**50. Khan AV., Ahmed Q., Mir MR., Shukla I & Khan AA:** Antibacterial efficacy of the seed extracts of *Melia Azedarach* against some hospital isolated human pathogenic bacterial strains. *Asian Pac J Trop Biomed*, 1(16) : 452-455 (2011).

**51. Lavoisier., 1995 :** Nouveau dictionnaire des huiles végétales, composition en acide gras. E Ugéne UCCIANI, P364.

**52. Lechat., 1992 :** Pharmacologie médicale, 5<sup>ème</sup> éditions Masson.741pp.

**53. Leyral cuy., Jean Figarell., Michelle Terreat., 1998 :** Microbiologie appliquer, Paris,1998 Tome 2, P 153.

**54. Lis-Balchin., Deans G., Eaglesham E.:** Relationship between the bioactivity and chemical composition of commercial plant essential oils. *Flav. Fragr. J.* 13, pp 98–104. (1998).

**55. Lucchesi M., 2005 :** Extraction sans solvant assistée par microondes conception et Application à l'extraction des huiles essentielles, université de RETON faculté de sciences et Technologie (thèse de Doctorat), P132.

**56.Méndez M.D.C., Aragão M., Elias F., Riet-Correa F. et Gimeno E.J., 2002.** Experimental intoxication by the leaves of *Melia azedarach* (Meliaceae) in cattle. *Pesq. Vet. Bras.* 22(1), 19-24

**57. Milla A., Hacini D. S., Voisin J. F. et Doumandji S :** Caractéristiques biochimiques de quelques espèces de fruits charnus communes dans le Sahel algérois recherchées par 142les oiseaux frugivores, *Algerian journal of arid environment* ISSN-2170-1318 Vol. 1, n° 1, 60-69 (2011).

**58.Oelrichs P.B., Hill M.W., Valley P.J., MacLeod J.K. et Molinski T.F., 1985.** The chemistry and pathology of meliatoxins A and B constituents from the fruit of *Melia azedarach* L. var. *australasica*, 387-394. In: Seawright A.A., Hegarty M.P., James L.F. et al. (ed.) *Plant Toxicology.* Queensland Poisonous Plants Committee, Yeerongpilly, Australia.

**59. Orwa, C.; Mutua, A.; Kindt, R.; Jamnadass, R.; Anthony, S:** *Agroforestry Database 4.0: a tree reference and selection guide, melia azedarach,* World Agroforestry Centre, (2009).

**60.Peter B., Oelrichs M.W., Hill P.J., Vally Y., John K., Macleo D., Tadeusz Keshri.G., Lakshmi V. et Singh M.M., 2003.** Pregnancy interceptive activity of *Melia azedarach* L. in adult female Sprague-Dawley rats.*Contraception*, 68, 303-306.

**61. Raelison Emmanuel Guy.,2016 :** Etudes chimique et biologique pour l'assurance qualité et la valorisation des plantes, Synthèse des travaux Vol2.

**62. Rahmatullah MM, Khatun A, Morshed N, Neogi PK., A:** randomized survey of medicinal plants used by folk medicinal healers of Sylhet division, Bangladesh. *Adv in Nat Appl Sci*, 4(1): 52-62 (2010).

**63. Rani M, Suhag P, Kumar R, Singh R & Kalidhar SB (1999):** Chemical component and biological efficacy of *Melia azedarach* stems. *J. Med Aromatic Plant Sci*, 21:1043-1047.

**64. Reguieg L (2011)** Using medicinal plants in Algeria. *Am J Food Nutr* 1 (3) : 126–7.

**65. Regnault-Roger et Chaupin., 1994 :** Composition insecticides à base d'un décyclénate De méthyle Brevet FR 94.07237 du 14-06-94.

**66. Sharma D. & Paul Y:** Preliminary and Pharmacological Profile of *Melia azedarach* L.: An Overview. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* Vol. 3 (12), pp. 133-138, (2013).

**67. Sharma PC, Yelne MB & Dennis TJ:** Database on medicinal plants used in Ayurveda, (Documentation and Publication Division, Central Council for Research in Ayurveda and Siddha, New Delhi. pp.389-406 (2001).



- 68. Sagoua W., 2009** : Etude synergique du couplage du Système Lactoperoxydase avec d'autres molécules naturelles actives ayant des propriétés antifongiques pour l'amélioration de la conservation en frais des bananes. Thèse Doc., de l'Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse.
- 69. Saleem, R., RaniR., Amhed F.S., Amhed S.I., Zafar N., Khan S.S., Siddiqui B.S., Lubna, Ansari F., KhanS.A., Faizi S.**, Effect of cream containing *Melia azedarach* flowers on skin diseases in children. *Phytomed.*; 15: 231-236 (2008).
- 70. Sen A., Batra A., Rao D.V.**: Pivotal role of plant growth regulators in clonal propagation of *Melia azedarach* L. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*; 5 (2): 43-49 (2010).
- 71. Senthil-Nathan S., 2006.** Effects of *Melia azedarach* on nutritional physiology and enzyme activities of the rice leaf folder *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae), *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84, 98–108
- 72. Schauemberg P., 1977** : Guide des plantes médicinales analyse, description et utilisation de 400 plantes. Delachaux et Niestle 3<sup>ème</sup> édit. : 396.
- 73. Schumtterer., 1995**: The neem tree, Weinheim, 605-633p.
- 74. Svitlana NITIEMA-YEFANOVA, Gouyahali SON, Siédouba YE, Roger H. C. NEBIE & Yvonne BONZI-COULIBALY** : Optimisation des paramètres d'extraction à froid de l'huile d'*Azadirachta indica* A.Juss et effets sur quelques caractéristiques chimiques de l'huile extraite, science direct ,2012.
- 75. Vigner., 1978 in Iddib z., Ourab S** : l'étude analytique de *Melia Azedarach*, évaluation de son activité antimicrobienne et toxicité sur les sa toxicité abeilles. Mémoire fin d'étude d'ingénieur en biotechnologie végétale USDB, 2009-2010.
- 76. Stuart.,1911 in Hajaniaina O.M : Projet DPV/JTZ** « Promotion de la protection intégrée des cultures et des donerées stockées à Madagascar »,1998.
- 77. Saleem, R., RaniR., Amhed F.S., Amhed S.I., Zafar N., Khan S.S., Siddiqui B.S., Lubna, AnsariF., KhanS.A., Faizi S.**, Effect of cream containing *Melia azedarach* flowers on skin diseases in children. *Phytomed.*; 15: 231-236 (2008).
- 78. Svitlana Nitièma-Yefanova .al, 2016**: Optimization of the parameters of cold extraction of the oil of *Azadirachta indica* A.Juss and effects on some chemical characteristics of the extracted oil, <https://www.researchgate.net/publication/287091832>
- 79. Warriar PK, Nambiar VPK & Ramankutty C.**, Indian medicinal plants, a compendium of 500 species, (Orient Longman Limited, Hyderabad. pp. 10-14 (1995).
- 80. Tam Garland., A. Catherine Barr**: Toxic Plants and Other Natural Toxicants, CABI, p. 514
- 81. Terrac P., 1947** : Contribution à l'étude des plantes médicinales de Madagascar, de la Réunion et de l'île Maurice.
- 82. Warriar PK, Nambiar VPK & Ramankutty C.**, Indian medicinal plants, a compendium of 500 species, (Orient Longman Limited, Hyderabad. pp. 10-14 (1995)
- 83. ZAFIROBISON Michael Aymard ,2008** : contribution à l'étude chimique et biologique de *Melia Azedarach* L. (MELIACEAE), université D'ANTANANARIVO faculté des sciences des Science, Département de chimie organique ORGANIQU Mémoire Pour l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies D.E.A. Chimie Organique.
- 84-Mishra G, Jawla S & Srivastava V.**, *Melia azedarach*: a review. *IJMCA*, 3(2): 53-56 (2013)

## Matériels non biologiques

### 1. Equipements :

Autoclave.  
Balance de précision.  
Etuves bactériologiques (25°C, 35°C, 42°C).  
Extracteur presse.  
Plaque chauffante.  
Réfractomètre.  
Spectrophotomètre infrarouge.  
CG-MS de type Perkin Elmer.

### 2. Verreries et consommables :

Béchers : 50 ml, 100 ml, 250 ml, 500 ml.  
Boîtes de pétri stériles.  
Burette 20 ml.  
Disques vierges de 0,9cm de diamètre.  
Écouillons Stériles.  
Pipettes Pasteurs.

### 3. Milieux de culture :

Gélose Sabouraud  
Gélose soja- gélosé

### 4. Solutions et réactifs utilisés :

Acide acétique à 0.01%.  
Acide chlorhydrique (HCl) : 0,5 mol/l.  
Eau distillée.  
Ethanol 95° et 70°.  
Éther d'éthylrique.  
Hydroxyde de potassium (KOH) : 0,02 mol/l et 0,5 mol/l.  
Rouge de phénol : 0,4 g/l.  
Sulfate de sodium (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>).  
Acide chlorhydrique.

Dichlorométhane.

Huile Végétal.

REACTIFS.

Nitrate de bismuth.

Anhydride acétique.

Acide sulfurique

Magnésium.

Chlorure mercurique II.

Iodure de potassium.

Chlorure de sodium.

Chlorure ferrique.

Méthanol.

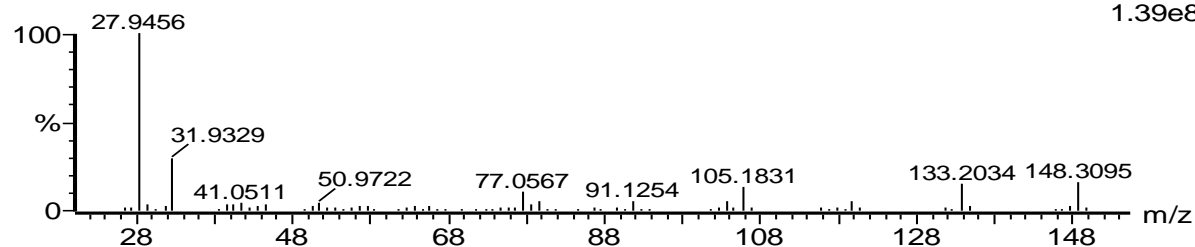
Chloroforme.

# Résultat d'analyse avec chromatographie CG/MS.

, 29-May-2011 + 21:01:53

huile\_mou\_29\_05\_2011 862 (10.347)

Scan EI+  
1.39e8



REV	for	Compound Name	M.W.	Formula	CAS
961	862	PROPANAL, 2-METHYL-3-PHENYL-	148	C10H12O	900131-87-6
959	860	BENZALDEHYDE, 4-(1-METHYLETHYL)-	148	C10H12O	122-03-2
951	853	BENZALDEHYDE, 4-(1-METHYLETHYL)- (CAS) CUMINIC ALDEHYDE 4-IS	148	C10H12O	122-03-2
946	841	BENZALDEHYDE, 4-(1-METHYLETHYL)-	148	C10H12O	122-03-2
945	605	(E)-2,3-DIMETHYL-5-(1'3'-BUTADIEN-1'-YL)FURAN	148	C10H12O	77822-43-6

Calcul de la moyenne de quantité d'extraction

L'extraction 1 : on a introduit une quantité 80g de pulpe de fruit.

L'extraction 2 : on a introduit une quantité 100g de pulpe d de fruit.

L'extraction 3 : on a introduit une quantité 120gde pulpe d de fruit.

X

### Le calcul de rendement :

Le calcul de rendement se fait par la formule suivante :

$$R\% = \frac{M_1}{M_2} \times 100$$

On a

$M_1$  : masse d'huile gramme

$M_2$  : masse totale des graines en grammes

On a  $M_2 = 1000g$  et  $M_1 = ?$

ON a  $\zeta = 0.92$  et  $V = 100ml$

$$M = \zeta \times V \longrightarrow 0.92 \times 100 = 92g$$

$M_1 = 92g$

$$R\% = \frac{92}{1000} \times 100$$

$R\% = 9,2\%$

### Les calculs de la dose du teste de la toxicité

On a utilisé la méthode Up and Down.

On a utilisé la méthode 3 souris qui pèsent 20g.

Le principe de cette méthode est d'utiliser 2g/kg de la solution à tester.

On a : 2g  $\implies$  2000mg et 1k  $\implies$  1000g

$$\left. \begin{array}{l} 2000mg \longrightarrow 100g \\ X \longrightarrow 20g \end{array} \right\} \implies X = \frac{20 \times 2000}{1000} = 40mg$$

40 mg c'est la dose nécessaire pour les soi

On va convertir cette unité de masse en u

$$\zeta = \frac{M}{V} \quad \zeta = \text{densité} \quad \zeta = 0,92$$
$$V = \frac{M}{\zeta} = \frac{40}{0,92} = 43,47 \mu l$$

On prend la valeur 43 $\mu$ l au lieu 43,47 $\mu$ l car on ne peut pas prélever cette dernière par la seringue.

$$43\mu\text{l} = 0,043\text{ml} \quad (1\text{ml} = 1000\mu\text{l})$$

La dose 0,043ml d'huile de *Melia Azederach* est trop petite il faut qu'on ajuste avec l'eau distillé pour obtenir une dose de 0,5ml du mélange.

La solution doit être préparée pour les 3 souris.

$$0,043 \text{ ml} + X = 0,5 \quad \Longrightarrow \quad x \cdot 0,043 + X = 3 \times 0,5$$

$$0,1379\text{ml} \sim 1,4 \text{ ml} \quad \ll \text{C'est la valeur d'eau distillé nécessaire} \gg$$

Pour ajuster 0,13 ml de l'huile pour détenir 0,5 ml du mélange à tester.

## Test des triterpénoïdes et des stéroïdes

Les réactifs communs de ces deux terpènes sont :

- le réactif de **Liebermann Burchard** test de coloration
- la solution chloroformique  
de chlorure d'Antimoine test de fluorescence

On prélève quelques milligrammes d'extrait brut.

On additionne 10 mL de dichlorométhane, puis on agite pendant 10 mn. La solution obtenue est séchée sur  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , ensuite filtrée. Le filtrat est réparti dans 6 tubes à essais propres et secs.

Tube 1	Témoin	
Tube 2	<b>Test de Liebermann Burchard</b> Additionner 3 à 4 gouttes d'anhydride acétique 3 à 4 gouttes de $\text{H}_2\text{SO}_4$ cc  Si la coloration est : <b>Pourpre</b> <b>Violette ou bleue vert</b>	<b>Présence de triterpènes</b> <b>Présence de stéroïdes</b>
Tube 3	<b>Test de Salkowski</b> Incliner le tube de $45^\circ$ Ajouter 1 mL $\text{H}_2\text{SO}_4$ cc Si l'anneau de séparation est : <b>Rouge</b>	<b>Présence de stéroïdes insaturés</b>
Tube 4	<b>Test de Badjet Kedde</b> Additionner Un peu d'acide picrique Si la coloration est : <b>Rouge</b>	<b>Présence de stéroïdes lactoniques</b>
Tube 5	<b>Test de Keller-Killiani</b> Additionner Quelques gouttes de $\text{FeCl}_3$ 10% Quelques gouttes d'acide acétique glacial  Incliner le tube de $45^\circ$ Si l'anneau de séparation est : <b>Rouge pourpre</b>	<b>Présence de 2-déoxy-sucre</b>
Tube 6	Additionner un peu de solution chloroformique saturée de chlorure d'antimoine $\text{SbCl}_3$ S'il y a apparition d'une fluorescence <b>Bleue</b> <b>Jaune</b>	<b>Présence de triterpènes</b> <b>Présence de stéroïdes</b>

### Test de flavonoïdes et de leucoanthocyanes

L'extrait sec est dissous dans l'éthanol 80% puis filtré. Le filtrat est partagé dans 5 tubes à essais propres et secs :

Tube 1	Témoin						
Tube 2	<p>Test de <b>Wilstater</b> Additionner 0,5 mL de HCl cc Quelques tournures de Mg Si la coloration est :</p> <table><tbody><tr><td><b>Rouge</b></td><td><b>Présence de flavones</b></td></tr><tr><td><b>Rouge à pourpre</b></td><td><b>Présence de flavonols</b></td></tr><tr><td><b>Rouge violacé</b></td><td><b>Présence de flavanones et flavanols</b></td></tr></tbody></table>	<b>Rouge</b>	<b>Présence de flavones</b>	<b>Rouge à pourpre</b>	<b>Présence de flavonols</b>	<b>Rouge violacé</b>	<b>Présence de flavanones et flavanols</b>
<b>Rouge</b>	<b>Présence de flavones</b>						
<b>Rouge à pourpre</b>	<b>Présence de flavonols</b>						
<b>Rouge violacé</b>	<b>Présence de flavanones et flavanols</b>						
Tube 3	<p>Test de <b>Wilstater modifié</b> Additionner 0,5 mL de HCl cc Quelques tournures de Mg Après dissolution de Mg Ajouter 1 mL d'eau distillée et 1 mL d'alcool isoamylique Si la coloration est : de la phase supérieure est</p> <table><tbody><tr><td><b>Rouge</b></td><td><b>Présence de flavones</b></td></tr><tr><td><b>Pourpre</b></td><td><b>Présence de flavonols</b></td></tr></tbody></table>	<b>Rouge</b>	<b>Présence de flavones</b>	<b>Pourpre</b>	<b>Présence de flavonols</b>		
<b>Rouge</b>	<b>Présence de flavones</b>						
<b>Pourpre</b>	<b>Présence de flavonols</b>						
Tube 4	<p>Test de <b>Bate-Smith</b> Additionner 0,5 mL de HCl cc Chauffer pendant 30 mn au bain marie Laisser refroidir Si la coloration est</p> <table><tbody><tr><td><b>Rouge violacé</b></td><td><b>Présence de Leucoanthocyanes</b></td></tr></tbody></table>	<b>Rouge violacé</b>	<b>Présence de Leucoanthocyanes</b>				
<b>Rouge violacé</b>	<b>Présence de Leucoanthocyanes</b>						
Tube 5	<p>Additionner 0,5 mL de HCl cc froid Si la coloration est</p> <table><tbody><tr><td><b>Rouge</b></td><td><b>Présence d'anthocyanes</b></td></tr></tbody></table>	<b>Rouge</b>	<b>Présence d'anthocyanes</b>				
<b>Rouge</b>	<b>Présence d'anthocyanes</b>						

### Test des alcaloïdes

Dissoudre l'extrait brut dans 10 mL HCl 2%

Filtrer la solution et le filtrat est divisé dans 4 tubes à essais

Tube 1	Témoin	
Tube 2	Ajouter Si le précipité est <b>Blanc jaunâtre</b>	5 gouttes de réactif de Mayer  <b>Présence d'alcaloïdes</b>
Tube 3	Ajouter Si le précipité est <b>Orange</b>	5 gouttes de réactif de Dragendorff  <b>Présence d'alcaloïdes</b>
Tube 4	Ajouter Si le précipité est <b>Rouge orangé</b>	5 gouttes de réactif de Wagner  <b>Présence d'alcaloïdes</b>

### Test des coumarines

On dissous le résidu brut avec de l'eau chaude. On filtre la solution aqueuse et le filtrat est réparti dans deux tubes à essais :

Tube 1	Témoin	
Tube 2	Additionner  Observer à la lumière U.V ( $\lambda=254$ nm ou 365 nm)  S'il y a fluorescence  <b>Bleue</b>	0,5 mL NH <sub>4</sub> OH 10%       <b>Présence de coumarines</b>

### Test des quinones

L'extrait brut est dissout dans 15 mL d'eau distillée puis filtré.

Extraire le filtrat avec un mélange d'éther-chloroforme 3/1 (v/v) dans une ampoule à décanter.

Ajouter 3 mL NH<sub>4</sub>OH au 1/2 ensuite agiter.

Observer le changement de la coloration de la phase alcaline (inférieure) à l'œil nu

Si la coloration est :

**Rouge** **Présence de quinones**