



Université de Constantine 3 Salah BOUBNIDER
Faculté de génie des procédés
Département génie chimique

**CONCEPTION DE FLUIDE SUPERCRITIQUE
POUR L'EXTRACTION A FLUIDE SUPERCRITIQUE D'HUILE DES PLANTES
NATURELLES**

THESE

Présentée pour l'Obtention du
Diplôme de Doctorat troisième cycle en Génie des Procédés
Option Génie Chimique

Par
Sarrah MELLOUL

Année Universitaire
2022-2023



Université de Constantine 3 Salah BOUBNIDER
Faculté de génie des procédés
Département génie chimique

N° de Série:

N° d'Ordre:

**CONCEPTION DE FLUIDE SUPERCRITIQUE
POUR L'EXTRACTION A FLUIDE SUPERCRITIQUE D'HUILE DES PLANTES
NATURELLES**

THESE

Présentée pour l'Obtention du
Diplôme de Doctorat troisième cycle en Génie des Procédés
Option Génie Chimique

Par
Sarra MELLOUL

Devant le Jury Composé de:

OUTILI Nawel	Présidente	Professeur	Université Salah BOUBNIDER- Constantine 3
LOUAER Wahida	Examinatrice	Professeur	Université Salah BOUBNIDER- Constantine 3
ZEHIOUA Raouf	Directeur de thèse	MCA	Université Salah BOUBNIDER- Constantine 3
BOUKHALFA Noura	Examinatrice	Professeur	Université de Batna 1
MADANI Hakim	Examineur	Professeur	Université de Batna 2
DAFFRI Amel	Examinatrice	MCA	Université Frère Mentouri - Constantine 1
MENIAI Abdeslam-hassen	Invité	Professeur	Université Salah BOUBNIDER- Constantine 3

Année Universitaire
2022-2023

REMERCIEMENTS

Ce travail s'est déroulé au Laboratoire de l'Ingénierie des Procédés de l'Environnement (LIPE) de la faculté du Génie des procédés de l'université de Constantine 3 Salah Boubnider.

Avant tout je remercie ALLAH le tout puissant de m'avoir permis de mener ce travail à terme.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements et de respect à mon Directeur de thèse Dr. ZEHIOUA Raouf ainsi qu'au Pr. MENIAI Abdeslam-Hassen, le Chef de notre équipe de recherche. C'est grâce à leurs directions et orientations durant toutes les années de mon doctorat que le présent travail a pu être mené à terme. Leur implication permanente, leur aide sans limite avec toujours des remarques, conseils et suggestions pertinentes tant aux niveaux théorique que pratique, leur ouverture d'esprit et confiance en moi et leurs encouragements dans les moments difficiles, ont été des facteurs qui n'ont fait que me donner la force et la motivation pour la réalisation de cet humble travail.

Un grand remerciement de plus à notre enseignant de toujours, Pr. MENIAI qui grâce à sa disponibilité inconditionnelle, une opportunité m'a été donnée pour apprendre et maîtriser beaucoup de nouvelles choses dans l'axe de recherche de l'équipe I en particulier et dans le génie des procédés en général. Je le remercie de m'avoir toujours poussée vers l'avant, pour toute sa confiance, ses conseils avisés, ses compétences et ses encouragements. Ses nombreuses idées furent pour moi un soutien très précieux. Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude à vie.

J'adresse également mes remerciements à Madame Zeyneb BOUCHERIT, enseignante et chercheur au Laboratoire d'obtention de Substances Thérapeutiques, Université des frères Mentouri-Constantine, pour son aide à la réalisation de certaines expériences concernant l'aspect biologique du travail. Je lui serai toujours reconnaissante et lui souhaite aussi de la réussite dans tous ses travaux de recherche.

Je n'oublie pas aussi de remercier mes autres enseignants de l'équipe I auprès desquels j'ai aussi beaucoup appris, mes collègues ingénieurs et doctorants pour l'ambiance conviviale régnant au laboratoire.

Finalement, j'exprime mon estime et mes remerciements aux membres du jury pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Dédicaces

Je dédie cette thèse à :

Mes chers parents, source de vie, d'amour et d'affection, qu'ALLAH les préserve et prolonge leur vie,

Mon cher frère et mes chères sœurs, source de joie, d'ambiance et de bonheur

Toute ma famille, source d'espoir et de motivation

Mes chers amis et collègues

À tous les enseignants qui ont contribué à ma formation

Qu'ALLAH les préserve tous

Chers lecteurs

Table des Matières

	Page
Liste des Figures.....	xii
Liste des Tableaux.....	xiv
Liste Des Abréviations	xvi
RESUME.....	xviii
Introduction générale.....	1
<i>CHAPITRE I</i>	
<i>SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE</i>	
1.1 Introduction	5
1.2 Techniques d'extraction	5
1.2.1 Procédés conventionnels	5
1.2.2 Procédés innovants	7
1.3 Fluides supercritiques.....	8
1.3.1 Historique	8
1.3.2 Définition.....	8
1.3.3 Propriétés physico-chimiques.....	10
1.3.4 Le CO ₂ supercritique	13
1.3.5 Application des fluides supercritiques.....	13
1.4 Revue de l'extraction supercritique.....	15
1.5 Les plantes considérées dans cette étude.....	21
1.5.1 Description de la plante <i>Peganum harmala L.</i>	22
1.5.2 Description de la plante <i>Plantago ovata</i>	25
<i>CHAPITRE II :</i>	
<i>MODÉLISATION THERMODYNAMIQUE DES ÉQUILIBRES SOLIDE – CO₂</i> <i>SUPERCRITIQUE ET DESCRIPTION DE LA METHODE DE CONCEPTION DE</i> <i>NOUVEAUX FLUIDES SUPERCRITIQUES</i>	
2.1 Introduction	28
2.2 Conception moléculaire de nouveaux fluides supercritiques	28

2.2.1	Description de la méthode de conception.....	28
2.2.2	Objectifs de la conception moléculaire de fluides supercritiques	30
2.3	Calcul de la solubilité d'huile dans un fluide supercritique	31
2.3.1	Condition d'équilibre.....	31
2.3.2	Calcul de la solubilité du solide dans un fluide supercritique	31
2.3.2a	Le coefficient de fugacité	32
2.4	Les équations d'état.....	32
2.4.1	Les équations d'état cubiques.....	34
2.4.1a	L'équation de Peng- Robinson.....	35
2.4.1b	Règles de mélange.....	37
2.4.2	Paramètre d'interaction binaire k_{ij}	38
2.4.3	Prédiction des propriétés critiques et du facteur acentrique par des méthodes de contributions de groupes.....	40
2.4.3a	Classification des groupes	40
2.4.3b	Calcul des propriétés critiques.....	42
2.4.3c	Volume molaire du liquide à saturation.....	44
2.4.3d	Calcul de la pression à saturation	44

CHAPITRE III

ASPECTS THÉORIQUES SUR LES ACTIVITÉS BIOLOGIQUES

3.1	Introduction	47
3.2	Rappel sur les métabolites secondaires des végétaux.....	47
3.2.1	Les composés phénoliques	49
3.3	Activités biologiques	52
3.3.1	Activités antimicrobiennes	53
3.3.1a	Activité antibactérienne	53
3.3.1b	Activité antifongique.....	54
3.3.2	Activité antioxydante.....	56
3.3.2a	Radicaux libres et stress oxydatif	56
3.3.2b	Stress oxydant.....	57
3.3.2c	Origine et rôle de certains antioxydants	58
3.3.2d	Évaluation de l'activité antiradicalaire par piégeage du radical libre (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH).....	59

CHAPITRE IV

MATERIELS ET METHODES

4.1	Introduction	61
4.2	Matériel	61
4.2.1	Matériel végétal	61
4.2.2	Matériel biologique	62
4.2.3	Réactifs chimiques et matériel instrumental.....	62
4.3	Préparation des extraits et dosages des composés phénoliques.....	63
4.3.1	Extraction par CO ₂ supercritique.....	63
4.3.2	Extraction par Soxhlet	66
4.3.3	Rendement d'extraction.....	67
4.3.4	Dosages des composés phénoliques	67
4.4	Évaluation des Activités biologiques.....	68
4.4.1	Activité antioxydante.....	68
4.4.2	Activité antibactérienne.....	69
4.4.2a	Méthode des disques de diffusion sur gélose.....	69
4.4.3	Activité antifongique	70
4.5	Analyse de l'huile de <i>Peganum harmala</i> et <i>Plantago ovata</i> par CPG-SM (ou GS-MS).....	71

CHAPITRE V

RESULTATS ET DISCUSSIONS

5.1	Introduction	74
5.2	Rendement d'extraction.....	74
5.2.1	<i>Peganum harmala</i> L	74
5.2.1a	Extraction par CO ₂ supercritique.....	74
5.2.1b	Extraction par Soxhlet	76
5.2.2	<i>Plantago ovata</i>	76
5.2.2a	Extraction par CO ₂ supercritique.....	76
5.2.2b	Extraction par Soxhlet	77
5.3	Modèle de Box-behnken et analyse statistique.....	77
5.3.1	<i>Peganum harmala</i> L.....	77
5.3.1a	Rendement d'extraction d'huile de <i>Peganum harmala</i>	77

5.3.1b	Analyse quantitative des extraits <i>Peganum harmala</i> préparés	78
5.3.1c	Analyse de la variance	81
5.3.1d	Optimisation du rendement d'extraction d'huile	83
5.3.1e	Effet des paramètres opératoires sur le rendement d'extraction	85
5.3.2	<i>Plantago ovata</i>	88
5.3.2a	Rendement d'extraction.....	88
5.3.2b	Analyse quantitative des extraits <i>Plantago ovata</i> préparés	91
5.3.2c	Analyse de la variance	94
5.3.2d	Optimisation du rendement d'extraction d'huile	96
5.3.2e	Effet des paramètres opératoires.....	98
5.4	Activités biologiques	98
5.4.1	<i>Peganum harmala</i>	98
5.4.1a	Activité de piégeage des radicaux DPPH	98
5.4.1b	Activité Antimicrobienne	102
5.4.2	<i>Plantago ovata</i>	107
5.4.2a	Activité de piégeage des radicaux DPPH	107
5.4.2b	Activité antimicrobienne	108
5.5	Résultats d'analyse chromatographiques (GC-MS) des extraits	112
5.5.1	<i>Peganum harmala</i>	112
5.5.2	<i>Plantago ovata</i>	115
5.6	Modélisation thermodynamique : Résultats et discussions	118
5.6.1	Propriétés critiques	118
5.6.1a	Température critique.....	118
5.6.1b	Pression critique	121
5.6.2	Application de la stratégie de conception de nouveaux fluides.....	124
5.7	Optimisation du procédé d'extraction par CO ₂ par rapport à la composition de l'extrait .	139
5.7.1	Optimisation de la composition des extraits du <i>Peganum harmala</i> et du <i>Plantago ovata</i>	139
5.7.1a	Calcul les propriétés critiques et physiques	140
5.7.2	Calcul du paramètre d'interaction k_{ij} et des solubilités des différents constituants considérés dans les extraits issus des deux plantes.....	142
5.7.2a	Calcul du paramètre d'interaction k_{ij} par optimisation	142
5.7.2b	Calcul du paramètre d'interaction k_{ij} à partir de la méthode de Jaubert	144

Conclusion générale	148
Références bibliographiques	150
LISTE DES ANNEXES	165

Liste des Figures

Figure	Page
1.1 Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clavenger.....	6
1.2 Schéma de l'extracteur Soxhlet.....	7
1.3 Diagramme de phases d'un corps pur.....	9
1.4 Évolution de la masse volumique du CO ₂ en fonction de la pression pour différentes températures.....	11
1.5 Évolution avec la température de la viscosité dynamique et de la masse volumique, à 80 et 100 bars.....	12
1.6 <i>Peganum harmala</i>	23
1.7 Graines de <i>Plantago ovata</i>	26
2.1 Exemple de génération d'une structure moléculaire du fluide candidat à partir de groupes choisis.....	29
3.1 Exemples de familles et sous-familles de métabolites secondaires.....	49
3.2 Principales classes des composés phénoliques.....	49
3.3 Mécanisme d'action anti radicalaire des polyphénols.....	59
4.1 Échantillons de graines de <i>Peganum harmala</i> préparés pour l'extraction.....	61
4.2 Échantillons de graines de <i>plantago ovata</i> préparés pour l'extraction.....	62
4.3 Pilote d'extraction par CO ₂ supercritique.....	64
4.4 Extraction par Soxhlet.....	66
4.5 Évaporateur rotatif.....	66
4.6 Dessiccateur infrarouge (Hygrometer (Denver instrument)).....	67
5.1 Différents extraits de graines de <i>Peganum Harmala</i> par CO ₂ supercritique dans différentes conditions.....	75
5.2 Extraits de graines de <i>Peganum Harmala</i> par Soxhlet.....	76
5.3 Comparaison des valeurs expérimentales et des résultats prédits de l'extraction d'huile de <i>Peganum harmala</i> par CO ₂ upercritique.....	78
5.4 Effet des paramètres opératoires sur le TPC, le TFC et le TTC des extraits supercritiques de <i>Peganum armala</i>	81
5.5 Les valeurs expérimentales tracées par rapport aux valeurs prédites dérivées du modèle de rendement (%), TPC (mg GAE/g E) et IC 50 (µg/ml), pour un temps = 180 min (3 heures).....	83
5.6 Effets d'interaction des variables sur le rendement d'extraction d'huile.....	84
5.7 La surface de réponse et les tracés de contour du rendement (R %) en fonction de (a) la pression (bar) et la température (°C), (b) le diamètre (mm) et la température (°C) et (c) le diamètre (mm) et Pression (bar).....	85
5.8 Cinétique d'extraction de <i>Peganum harmala</i>	86
5.9 Effet de la température sur l'efficacité de l'extraction.....	87
5.10 Comparaison des valeurs expérimentales et calculées du rendement d'extraction d'huile du <i>Plantago ovata</i> par CO ₂ supercritique.....	89
5.11 Effets d'interaction des variables sur le rendement d'extraction d'huile.....	90
5.12 Cinétique d'extraction de <i>Plantago ovata</i>	91

5.13 Comparaisons des valeurs expérimentales et calculées par le modèle pour TPC (mg GAE/g E), TPC (mg QE/g E) et TCC (mg CE/g E), pour le temps 180 min.....	95
5.14 Les surfaces de réponse et les tracés de contour du rendement (R %) en fonction de (a) la pression (bar) et la température (°C), (b) la taille des particules (mm) et la température (°C) et (c) la taille des particules (mm) et Pression (bar).....	97
5.15 Effet des paramètres opératoires sur les TPC, TFC et TTC des extraits supercritiques de graines de <i>plantago ovata</i>	98
5.16 Variations de TPC et DPPH (CI50 µg/µl) des extraits de <i>Peganum Harmala</i>	101
5.17 Les surface de réponse et de contour de CI50 et TPC en fonction de (a) diamètre (mm) et température (°C), (b) diamètre (mm) et Pression (bar) et (c) Température (°C) et Pression (bar).....	102
5.18 Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de <i>Peganum harmala</i> avec différentes conditions d'extraction (activité antibactérienne).....	105
5.19 Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches bactériennes testées par les extraits de graine de <i>Peganum harmala</i>	105
5.20 Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de <i>Peganum harmala</i> avec différentes conditions d'extraction (activité antifongique).....	106
5.21 Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches fongiques testées par les extraits de graine de <i>Peganum harmala</i>	107
5.22 Valeurs IC50 (µg/mL) obtenues pour l'activité antioxydante par piégeage des radicaux 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) et TPC (mg GAE/g E) dans les extraits méthanoliques.....	108
5.23 Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de <i>Plantago ovata</i> avec différentes conditions d'extractions (activité antibactérienne).....	110
5.24 Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches bactériennes testées par les extraits de graine de <i>Plantago ovata</i>	110
5.25 Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de <i>Plantago ovata</i> à différentes conditions d'extractions (activité antifongique).....	111
5.26 Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches fongiques testées par les extraits de graine de <i>Plantago ovata</i>	112
5.27 Chromatogrammes obtenus après analyse GC-MS de MtOH et d'extraits supercritiques de graines de <i>Peganum harmala</i>	115
5.28 Chromatogramme obtenu après analyse GC-MS de MtOH et d'extraits supercritiques de graines de <i>Plantago ovata</i>	118
5.29 Organigramme de calcul de la solubilité dans un fluide supercritique.....	127
5.30 Profil d'acides gras des graines de <i>Peganum harmala</i> analysées par GC-MS représenté par une carte.....	141
5.31 Profil d'acides gras des graines de <i>Plantago ovata</i> analysées par GC-MS représenté par une carte.....	141

Liste des Tableaux

Tableau	Page
1.1	Température et pression critiques de fluides courants9
1.2	Travaux d'extraction d'huile à partir de plantes naturelles réalisées en 2021 et 2022.....18
2.1	Les paramètres a et b pour corps pur.....35
2.2	Paramètres d'interaction pour le calcul de kij pour l'équation de Peng-Robinson.....40
2.3	Décomposition de la molécule de butane.....41
3.1	Propriétés de quelques constituants majeurs des plantes médicinales48
3.2	Principaux composés phénoliques et leurs propriétés.....50
3.3	Activités biologiques et usage médicinal de certaines plantes, liées aux métabolites bioactifs qu'elles contiennent.....52
4.1	Le niveau des variables choisies pour le plan de Box-Behnken.....65
4.2	Matrice expérimentale de l'extraction par CO2 supercritique.....65
4.3	Conditions d'analyse par GC-MS (Protocole 1).....72
4.4	Conditions d'analyse par GC-MS (Protocole 2).....73
5.1	Résultats expérimentaux de l'extraction d'huile de <i>Peganum Harmala</i>75
5.2	Résultats expérimentaux de l'extraction d'huile de <i>Peganum Harmala</i>76
5.3	Valeurs expérimentales et calculées du rendement d'extraction de l'huile à partir du <i>Plantago ovata</i>77
5.4	Résultats de la conception expérimentale pour TPC, TFC et TTC (par CO2 supercritique).79
5.5	Analyse des résultats de variance pour les modèles quadratiques.....81
5.6	Conditions optimales, valeur prédite et expérimentale de la réponse.....83
5.7	Résultats expérimentaux pour le rendement, TPC, TFC et TTC (par Soxhlet).....88
5.8	Résultats expérimentaux et calculés pour TPC, TFC et TTC.....93
5.9	Résultats expérimentaux pour le rendement, TPC, TFC et TTC.....94
5.10	Analyse des résultats de la variance pour les modèles quadratiques.....94
5.11	Conditions optimales, valeur prédite de la réponse.....96
5.12	Valeurs de concentration inhibitrice médiane (CI50) obtenues avec des extraits de graines de <i>Peganum harmala</i> par CO2 supercritique.....99
5.13	Résultat expérimentale pour CI50, (par Soxhlet).....102
5.14	Test de sensibilité de différents extraits de <i>Peganum harmala</i> vis-à-vis des micro-organismes tests (mm) (activité antibactérienne).....103
5.15	Les diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de <i>Peganum harmala</i> (mm) pour l'activité antifongique.....106
5.16	valeurs d'inhibition maximale (IM) obtenues avec des extraits de graines de <i>Plantago ovata</i> par CO2 supercritique.....107

5.17	Valeurs CI50 et d'inhibition obtenues avec des extraits méthanoliques de graines de <i>Plantago ovata</i>	108
5.18	Test de sensibilité de différents extraits de <i>Plantago ovata</i> vis-à-vis des micro-organismes tests (mm) (activité antibactérienne).....	109
5.19	Les diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de <i>Plantago ovata</i> (mm) pour l'activité antifongique.....	111
5.20	Valeurs de température critique calculées par les méthodes de contribution de groupe et les valeurs expérimentales	118
5.21	Déviations relatives entre les valeurs expérimentales et calculées par les différentes méthodes de contribution de groupe.....	120
5.22	Valeurs de température critique calculées par les méthodes de contribution de groupe et les valeurs expérimentales.....	121
5.23	Déviations relatives entre les valeurs expérimentales et calculées par les différentes méthodes de contribution de groupe.....	123
5.24	Ensemble de groupements fonctionnels sélectionnés.....	124
5.25	Combinaisons des groupes sélectionnés.....	124
5.26	Estimation des propriétés critiques des nouveaux fluides conçus par les méthodes de Joback Et Constantinou).....	124
5.27	Solubilité des solutés considérés dans les fluides supercritiques générés par la méthode de conception moléculaire.....	128
5.28	Décomposition des composés purs constituant l'huile de <i>Peganum harmala</i> et <i>Plantago ovata</i>	140
5.29	Propriétés critiques des composés purs constituant l'huile de <i>Peganum harmala</i> et <i>Plantago ovata</i> utilisant la méthode de Joback.....	140
5.30	Propriétés physiques des constituants purs constituant l'huile de <i>Peganum harmala</i> et <i>Plantago ovata</i>	142
5.31	Paramètres d'interaction binaires et solubilités des composés purs constituant l'huile de <i>Peganum harmala</i>	143
5.32	Paramètres d'interaction binaires et solubilités des composés purs constituant l'huile de <i>Plantago ovata</i>	143
5.33	Composés sélectionnés comme solvants et leurs propriétés physiques.....	145
5.34	Composés sélectionnés comme solutés et leurs propriétés physiques.....	145
5.35	La solubilité du Naphthalène dans CO ₂ , C ₂ O ₂ , CH ₃ SH et COCCl ₂ supercritiques.....	145
5.36	La solubilité de l'anthracène dans CO ₂ , C ₂ O ₂ , CH ₃ SH et COCCl ₂ supercritiques.....	146

Liste Des Abréviations

Symbole	Désignation	Unité
a :	paramètre énergétique des équations d'état	[bar.m ⁻¹ .mol ⁻²]
b :	Covolume des équations d'état	[m ³ /mol]
M :	Masse molaire	[g.mol ⁻¹]
na :	Nombre d'atome	[-]
P :	Pression	[bar]
Pc :	Pression critique	[bar]
Pisat :	Pression à saturation du composé i	[bar]
R :	Constante des gaz parfaits	[cm ³ .bar/mol]
R ² :	Coefficient de détermination	[-]
R ² _{ajust} :	Coefficient de détermination ajusté	[-]
R _{exp} :	Rendement expérimentale (%)	
R _{pred} :	Rendement prédictive (%)	
T :	Température	[K]
Tc :	Température critique	[K]
Tb :	Température d'ébullition	[K]
Visat :	Volume molaire à saturation à température donnée des constituants i purs	[cm ³ .mol ⁻¹]
y _i :	Fraction molaire du composé i en phase liquide	[-]
z :	Facteur de compressibilité	

Symboles grecs

f_i^S, f_i^F :	Fugacité du composé i dans le solide et dans le fluide	[bar]
μ_i :	Potentiel chimique du composé i	[J.mol ⁻¹]
φ_i^S, φ_i^F :	Coefficient de la fugacité	[-]

ω : Facteur acentrique

Abréviation

CI₅₀ : Concentration inhibitrice médiane [mg/ml]

TPC : Composés phénoliques totaux [mg EAG/g Extrait]

TFC : Composés flavonoïdes totaux [mg EQ/g Extrait]

TTC : Composés de tanins condensés totaux [mg EC/g Extrait]

FSC : Fluide supercritique

PR78 : Peng et Robinson 1978

SRK : Soave-Redlich-Kwong

VdW : Van der Waals

Indices

C : critique

CO₂SC: Dioxyde de carbone supercritique

CF₄ : Le tétrafluorométhane (fréon 14)

CF₃CF₃ : Hexafluoroéthane

CH₂NCF₃ : 2,2,2-trifluoro-N-méthyléthanamine.

CF₃CH₃ : 1,1,1-trifluoroéthane

i : Composé i

kij : Paramètre d'interaction binaire

m : Mélange

s : Solide

F : Fluide

RESUME

Le présent travail traite de l'utilisation de l'extraction par fluide supercritique pour obtenir des huiles à partir de deux plantes naturelles locales choisies, à savoir les graines de *Peganum harmala* et de *Plantago ovata*. Le procédé d'extraction a été réalisé dans différentes conditions expérimentales de pression, de température et de granulométrie. En utilisant Box Behnken, le rendement optimal en graines de *Peganum harmala* a été de 15.001 % à 300 bars, 55 °C et une granulométrie de 0.5 mm, alors que pour les graines de *Plantago ovata*, il a été de 11.109% à 240 bar, 60°C et granulométrie 0.25mm. Les activités biologiques (antioxydante, antibactérienne et antifongique) de ces extraits ont également été évaluées. Le piègeur de radicaux DPPH a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. Les valeurs optimales pour l'IC50 et le TPC ont été de 172.99 µg/mL et 79.04 mg GAE/g E, respectivement à une pression d'extraction de 100 bar, une température de 35°C et une granulométrie de 0.9 mm. Cependant pour le TFC, une valeur optimale de 7.10 mg QE/g E a été obtenue à une pression de 170.7 bar mais toujours à une température et une granulométrie de 35°C et 0.9 mm, respectivement, alors qu'aucune activité n'a été enregistrée pour les graines de *Plantago ovata*, contrairement aux extraits obtenus par extraction Soxhlet au méthanol, où les résultats ont été estimés à 90 mg/ml et 35 mg/ml pour les graines de *Peganum harmala* et *Plantago ovata*, respectivement. Quant à l'activité antibactérienne, la capacité de 15 extraits de graines de *Peganum harmala* et de 15 extraits de *Plantago ovata*, à stabiliser 4 types de bactéries en plus de la levure candidate, a été testée. Quant à l'activité antifongique, sept champignons ont été testés. Des résultats différents ont été obtenus selon les bactéries et les champignons utilisés. De plus, les différents résultats ont été liés aux conditions expérimentales adoptées. Les résultats obtenus par extraction Soxhlet ont été bien meilleurs que ceux extraits par le dioxyde de carbone supercritique, malgré les avantages apportés par ce dernier. Cet inconvénient a encouragé le développement d'une stratégie de conception moléculaire des fluides supercritiques, utilisant le concept de contribution de groupe. Cinq nouveaux fluides supercritiques (CF_4 , CF_3CF_3 , CF_3CH_3 , CH_2NCF_3 et $CF_3CF_2CH_3$), ont été testés et ont montré de bien meilleures solubilités de deux solutés choisis (Climbazole, Irgacure) par rapport à celles dans le CO_2 supercritique à des plages de pression et de température données, contrairement à un troisième soluté (Triclocarbon) où seul le $CF_3CF_2CH_3$ proposé a montré légèrement une meilleure solubilité que dans le CO_2 supercritique. Enfin une autre approche a été proposée pour optimiser la composition de l'extraction en fonction d'un composé particulier directement lié à une activité de propriété ciblée particulière. Cela reste à affiner pour aboutir à un outil important pour l'obtention d'extraits sur mesure.

Mots clés : CO_2 supercritique ; *Peganum harmala*; *Plantago ovata* ; Activités biologiques; méthode de contribution de groupe ; Equation d'état.

ABSTRACT

The present work deals with the use of the supercritical fluid extraction to obtain oils from two chosen local natural plants, namely seeds of *Peganum harmala* and *Plantago ovata*. The extraction process was carried out under different experimental conditions of pressure, temperature and grain size. Using Box Behnken, the optimum seed yield of *Peganum harmala* was 15.001% at 300 bar, 55°C and a grain size of 0.5 mm, whereas for *Plantago ovata* seeds, it was 11.109% at 240 bar, 60°C and 0.25 grain size with.

The biological activities (antioxidant, antibacterial and antifungal) of these extracts were also evaluated. DPPH radical scavenger was used to assess the antioxidant activity. The optimal values for the IC₅₀ and the TPC were 172.99 µg/mL and 79.04 mg GAE/g E, respectively at an extraction pressure of 100 bar, a temperature of 35°C and a particle size of 0.9 mm. However for the TFC, an optimal value of 7.10 mg QE/g E was obtained at a pressure of 170.7 bar but still at a temperature and a particle size of 35°C and 0.9 mm, respectively, while no activity was recorded for the seeds of *Plantago ovata*, in contrast to extracts obtained by means of Soxhlet extraction using methanol, where the results were estimated at 90 mg/ml and 35 mg/ml for the seeds of *Peganum harmala* and *Plantago ovata*, respectively. As for the antibacterial activity, the ability of 15 *Peganum harmala* seed and 15 *Plantago ovata* plant extracts to stabilize 4 types of bacteria in addition to the candidate yeast was tested. As for antifungal activity, seven mushrooms were tested. Different results were obtained depending on the bacteria and the used fungi. Moreover the different results were related to the adopted experimental conditions. The results obtained by Soxhlet extraction were much better than those extracted by supercritical carbon dioxide, despite the advantages brought by supercritical carbon dioxide. This drawback encouraged the development of a molecular design strategy of supercritical fluids, using the group contribution concept. New five supercritical fluids (CF₄, CF₃CF₃, CF₃CH₃, CH₂NCF₃ and CF₃CF₂CH₃), were tested and showed much better solubilities of two chosen solutes (Climbazole, Irgacure) in supercritical CO₂ at given ranges of pressure and temperature, contrary to a third solute (Triclocarbon) where only the proposed CF₃CF₂CH₃ was slightly better than supercritical CO₂.

Finally another approach was proposed to optimize the composition of the extraction according to a particular compound directly related to a particular targeted activity of property. This remains to be refined further to end up with an important tool for the obtention extracts to measure.

Keywords: supercritical CO₂; *Peganum harmala*; *Plantago ovata*; Biological activities; group contribution method; State equation.

ملخص

يتناول العمل الحالي استخدام استخراج السوائل فوق الحرج للحصول على زيوت من نباتين محليين طبيعيين مختارين ، وهما بذور الحرمل (Peganum harmala) و لسان الحمل (Plantago ovata). تم إجراء عملية الاستخلاص تحت ظروف تجريبية مختلفة من الضغط ودرجة الحرارة وحجم الجسيمات. باستخدام طريقة (Box Behnkhen) كان المحصول الأمثل لبذور الحرمل هو 15.001% عند 300 بار ، 55 درجة مئوية و 0.5 ملم حجم الجزيئات ، بينما بالنسبة لبذور لسان الحمل كان 11.109% عند 240 بار ، 60 درجة مئوية 0.25 ملم .

كما تم تقييم الأنشطة البيولوجية (مضادات الأكسدة ومضادات الجراثيم والفطريات) لهذه المستخلصات. تم استخدام طريقة الكسح الجذري باستخدام (DPPH) لتقييم نشاط مضادات الأكسدة. كانت القيم المثلى لـ CI_{50} ، 172.99 ميكروغرام/ مل و بالنسبة لكمية البوليفينول (TPC) كانت 79.04 مغ /EAG /جرام من المستخلص ، عند ضغط استخراج 100 بار ودرجة حرارة 35 درجة مئوية وحجم جسيم 0.9 مم. و بالنسبة لـ لكمية فلافونويد (TFC) ، تم الحصول على القيمة المثلى 7.10 مغ / EQ / غرام من المستخلص عند ضغط 170.7 بار ودرجة حرارة وحجم جسيم يبلغ 35 درجة مئوية و 0.9 ملم على التوالي.

بينما لم يتم تسجيل أي نشاط بالنسبة لبذور لسان الحمل على عكس المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق استخلاص سوكليت بالميتانول ، حيث قدرت النتائج بـ 90 ميكروغرام / مل و 35 مجم / مل لبذور الحرمل و لسان الحمل على التوالي. أما بالنسبة للنشاط المضاد للبكتيريا ، فقد تم اختبار قدرة 15 مستخلص من بذور الحرمل و 15 مستخلص من لسان الحمل البيضوي لتثبيط 4 أنواع من البكتيريا بالإضافة إلى الخميرة المرشحة. فيما يتعلق بالنشاط المضاد للفطريات ، تم اختبار سبعة أنواع من الفطر. تم الحصول على نتائج مختلفة اعتماداً على البكتيريا والفطريات المستخدمة. علاوة على ذلك ، كانت النتائج المختلفة مرتبطة بالظروف التجريبية المعتمدة. كانت النتائج التي تم الحصول عليها عن طريق استخراج سوكلتي أفضل بكثير من تلك المستخرجة بواسطة ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج ، على الرغم من المزايا التي يوفرها هذا الأخير. شجع هذا العيب على تطوير استراتيجية التصميم الجزيئي للسوائل فوق الحرجة ، باستخدام مفهوم مساهمة المجموعة. تم اختبار خمسة سوائل فوق حرجة جديدة (CF₄) و CF₃CF₃ و CF₃CF₂CH₃ و CH₂NCF₃ ، وأظهرت النتائج قابلية ذوبان أفضل بكثير للمذابين المختارين (Irgacure ، Climbazole) مقارنة بتلك الموجودة في ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج في نطاقات الضغط ودرجة الحرارة ، على عكس المذاب الثالث (Triclocarbon) حيث أظهر قابلية ذوبان في CF₃CF₂CH₃ أفضل قليلاً من CO₂ فوق الحرج.

أخيراً تم اقتراح نهج آخر لتحسين تكوين الاستخراج وفقاً لمركب معين يرتبط ارتباطاً مباشراً بنشاط خاص مستهدف محدد. هذا لا يزال بحاجة إلى صقل لينتج عنه أداة مهمة للحصول على مقتطفات مخصصة.

الكلمات المفتاحية: ثاني أكسيد الكربون فوق الحرج ، الحرمل ، لسان الحمل ، الأنشطة البيولوجية، طريقة مساهمة المجموعة، معادلة الحالة.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

De nos jours, il est bien clair que les médicaments les plus utilisés pour contrer les effets de maladies graves telles que le cancer, les rhumatismes, les gripes, etc. sont à base de plantes naturelles. Ceci est en grande partie dû à l'incapacité de la chimie à assurer une couverture totale par rapport aux médicaments conventionnels, la baisse d'efficacité thérapeutiques de ces derniers, les effets secondaires nuisibles pouvant être induits, etc. Ceci n'est qu'un seul argument parmi d'autres pour souligner l'importance des plantes naturelles.

De grandes variétés de plantes dépendant de la nature des sols et de la diversité des climats, sont présentes à l'échelle planétaire. Certaines plantes sont même méconnues, ne portant aucun nom, et carrément inexploitées, alors que selon les statistiques des organismes internationaux spécialisés, le domaine des plantes naturelles qu'elles soient aromatiques ou médicinales, connaît une progression importante et ce depuis plus d'une vingtaine d'années avec une demande dépassant les 10% annuellement. Par conséquent tous ces facteurs ne peuvent qu'attirer l'attention quant à l'importance de ces plantes naturelles qui doivent être considérées comme des sources potentielles et inépuisables de substances telles que les huiles essentielles ou végétales dont la contribution à certains secteurs sensibles comme ceux des industries alimentaires, pharmaceutiques, parapharmaceutiques, cosmétiques, etc. n'est pas à démontrer.

En effet de nombreuses plantes ont été utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques, essentiellement dues à leurs métabolites secondaires: composés phénoliques, huiles essentielles, tanins, terpénoïdes, alcaloïdes, flavonoïdes, etc. Parmi ces métabolites, les composés phénoliques présentent un large éventail d'activités biologiques: antioxydant, antibactérien, anti-inflammatoire, cardioprotecteur, vasodilatateur, etc., d'où l'intérêt croissant pour les produits végétaux contenant ces composants phénoliques, car ils peuvent protéger l'organisme des dommages causés par le stress oxydatif et des maladies cardiovasculaires et le cancer. Par conséquent les plantes sont donc une source importante d'activités biologiques (antioxydant, antibactérienne et antifongique), et la plupart sont

efficaces contre divers organismes, y compris les champignons, les levures, les bactéries, les insectes, les nématodes, etc.

La valorisation de ce grand potentiel des plantes naturelles n'a pas pu être concrétisée d'une manière importante de par le fait que ce sont les techniques traditionnelles telles que l'hydrodistillation, extraction par Soxhlet, etc. qui sont les plus utilisées pour l'extraction de substances bioactives. Ces dernières sont limitées et peu rentables, consomment beaucoup de solvants, des temps d'extraction assez importants, etc. d'où la nécessité de développer des techniques d'extraction non conventionnelles comme celles basées sur la technologie des fluides supercritiques, utilisant principalement du dioxyde de carbone.

En effet les procédés d'extraction par fluides supercritiques sont basés sur l'une des technologies innovantes les plus populaires qui atténue dans une grande mesure les contraintes citées ci-dessus. Ces procédés peuvent être très prometteurs en termes de rendement, d'interaction avec l'environnement et de qualité des extraits, avec l'avantage de valoriser le CO₂, évitant ainsi son rejet dans l'atmosphère pour prévenir les problèmes connus de changement climatique, fournissant un procédé clé «vert» pour les domaines sensibles comme le cosmétique, la pharmacie et l'agro-alimentaire, surtout que ces procédés ont généralement un facteur environnemental très élevé (quantité de déchets/quantités de produits).

Une des applications qui est devenue assez importante dans des secteurs industriels assez sensibles comme ceux des industries pharmaceutiques et agroalimentaires est l'extraction à fluide supercritique, principalement le CO₂. Ceci a été surtout encouragé par le fait que l'usage de solvants comme dans les cas d'extractions conventionnelles est carrément évité d'où l'élimination des conséquences dangereuses surtout sur la santé publique pour le cas des produits pharmaceutiques et agroalimentaires.

Certes il est clairement établi que le CO₂ présente des avantages indiscutables comme son abondance, ses propriétés critiques pas élevées, son impact vis-à-vis de l'environnement, etc. Cependant il présente certains désavantages comme le fait qu'il soit non polaire et nécessite dans ce cas l'utilisation d'un co-solvant pour l'extraction de composés polaires. Aussi des fluides ayant des températures et pressions critiques pas trop élevées et inférieures même à celles du CO₂ pour le cas des systèmes très sensibles à la température (thermolabiles) sont aussi des cas fréquents et donc il serait très utile de proposer et développer une méthode

de conception de composés agissant comme solvants adéquats avec des propriétés critiques bien inférieures à celles du CO₂.

Par conséquent se basant sur ces deux points, l'exploration de nouveaux fluides pris à l'état supercritique peut être considérée comme un challenge assez intéressant, d'où sa considération dans la présente étude.

Dans ce travail, l'extraction par CO₂ supercritique a été utilisée pour l'obtention de substances bioactives à partir de deux plantes naturelles : *Peganum harmala* et *Plantago ovata*, qui ont été choisies de par l'importance thérapeutique des extraits obtenus.

Le manuscrit qui présente tout le travail accompli dans le cadre de cette thèse, a été organisé en cinq chapitres comme suit:

Le premier chapitre présente une synthèse bibliographique mettant l'accent sur l'extraction supercritique des huiles végétales à l'aide de dioxyde de carbone supercritique, leurs propriétés et leurs utilisations. Ce chapitre présente aussi une description générale des plantes étudiées, les graines de *Peganum harmala* et *Plantago ovata*, incluant leur description botanique, la localisation de leurs sources et leurs utilisations et applications.

Dans le deuxième chapitre, les aspects thermodynamiques de l'équilibre solide-liquide à haute pression ont été présentés. Ce chapitre est directement lié à l'objectif principal de cette thèse: proposition et test d'une méthode de conception moléculaire de nouveaux fluides sur la base du concept de contribution de groupes.

Le troisième chapitre, sont présentés les aspects théoriques des activités biologiques, en particulier les composés bioactifs, plus précisément les composés phénoliques.

Le chapitre 4 détaille la méthodologie de réalisation des travaux expérimentaux, matériels manipulés, et protocoles opératoires appliqués.

Le dernier chapitre résume tous les résultats obtenus ainsi que leurs discussions. Par souci de clarté, ces résultats sont présentés en trois grandes parties. La première partie contient les résultats de l'extraction au CO₂ supercritique et la comparaison avec l'extraction par Soxhlet. Une procédure d'optimisation a été réalisée pour optimiser le rendement d'extraction et la teneur en polyphénols en fonction des conditions opératoires. La deuxième partie concerne surtout les comparaisons entre les résultats des activités biologiques (activité antioxydante, antibactérienne, antifongique) et les paramètres opératoires sur l'inhibition. Finalement, La troisième partie englobe les résultats de modélisation. Les nouveaux fluides

générés par la stratégie de conception sont testés à l'état supercritique, comme substitués au CO₂. Apriori différentes méthodes de prédiction des propriétés physiques (propriétés critiques, facteur acentrique, pression de saturation, etc.) de certains composés des extraits obtenus nécessaires ont aussi été testées afin d'identifier la plus précise pour être utilisée dans le calcul des équilibres solide-liquide impliqués.

Le manuscrit se termine par une conclusion générale, récapitulant les différents résultats obtenus ainsi que les perspectives possibles qui permettront de développer ce travail.

CHAPITRE I
SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 Introduction

Ce chapitre est organisé en deux parties où la première concerne certains procédés d'extraction de composés bioactifs. Ces derniers sont d'un grand intérêt notamment dans les industries pharmaceutiques, parapharmaceutiques, cosmétiques et agroalimentaires, pouvant être des substituts aux composés synthétiques. Dans cette partie une attention particulière est accordée à l'extraction par fluide supercritique d'huiles à partir quelques plantes naturelles locales. Dans cette partie une présentation des fluides supercritiques ainsi que leurs propriétés, caractéristiques et applications, sont aussi données, citant quelques travaux assez récents rapportés dans la littérature et qui concernent l'extraction par CO₂ supercritique, d'huiles essentielles ou végétales à partir de certaines plantes naturelles. Ceci permettra de bien voir l'influence des conditions opératoires sur un tel procédé.

La deuxième partie est plutôt consacrée à la présentation des plantes sélectionnées dans le cadre de la présente étude et qui sont: *Peganum harmala* et *Plantago ovata*. Une idée est donnée sur leur disponibilité, leur utilité, leurs applications potentielles par rapport aux secteurs sensibles pharmaceutiques et agroalimentaires, etc.

1.2 Techniques d'extraction

Il existe plusieurs techniques d'extraction des composés à haute valeur ajoutée, tels que les composés bioactifs le plus souvent présents dans les plantes naturelles. Généralement ces techniques sont considérées comme conventionnelles.

Parmi les nombreuses techniques d'extraction dites conventionnelles et considérées comme étant les plus anciennes et les plus utilisées, l'extraction par solvant, par hydro distillation ou par entraînement à la vapeur, peuvent être citées.

1.2.1 Procédés conventionnels

Ces procédés sont décrits en détails dans la littérature. Il serait peut-être utile d'en discuter certains assez courants, comme suit:

A. Hydrodistillation

C'est l'une des méthodes la plus simple et la plus ancienne mais qui est assez utilisée même actuellement pour l'extraction des huiles essentielles à partir de matières sèches. Le procédé est montré par la figure 1.1 ci-dessous et il est assez simple et consiste tout simplement à plonger de la matière végétale directement dans un ballon rempli d'eau à ébullition sous pression atmosphérique.

La chaleur fournie engendre un éclatement des cellules végétales et donc une libération de molécules odorantes qui y sont renfermées. Le mélange obtenu est condensé dans un réfrigérant et les huiles essentielles se séparent de l'eau par différence de densité, d'où une phase aqueuse et une autre contenant l'huile essentielle.

Le procédé d'hydrodistillation peut durer plusieurs heures selon les moyens matériels utilisés et la matière végétale à traiter. Ces deux facteurs influent non seulement sur le rendement mais également sur la composition de l'extrait.

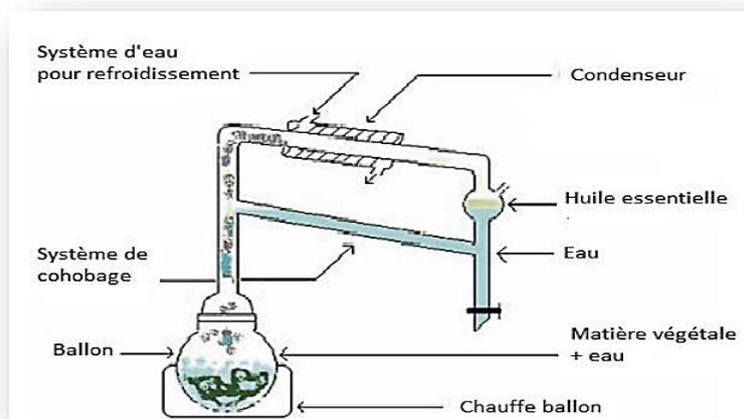


Figure 1.1 : Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clavenger[1].

B. Extraction par solvants organiques (Soxhlet)

C'est une technique assez classique pour l'extraction solide-liquide dont le procédé est montré par la figure (1.2) ci-dessous. Elle est utilisée dans les cas où les solvants sont autres que l'eau et ont un pouvoir d'extraction plus élevé que cette dernière si bien que les extraits ne contiennent pas uniquement des composés volatils, mais également un bon nombre de composés non volatils tels que des pigments, des acides gras, des cires, etc.

Les inconvénients les plus significatifs de cette technique par rapport à d'autres conventionnelles résident surtout dans la nature du procédé lui-même. En effet les solvants utilisés en grandes quantités sont assez dangereux pour l'homme et pour l'environnement, en plus de la durée d'extraction assez importante sans garantie de performance et donc économiquement ceci pourrait conduire inévitablement à des pertes. Aussi le fait que les échantillons soient portés à haute température pendant une période relativement importante, constitue un risque de thermo-dégradation de certains composés particulièrement si la matière végétale contient des composés thermolabiles.

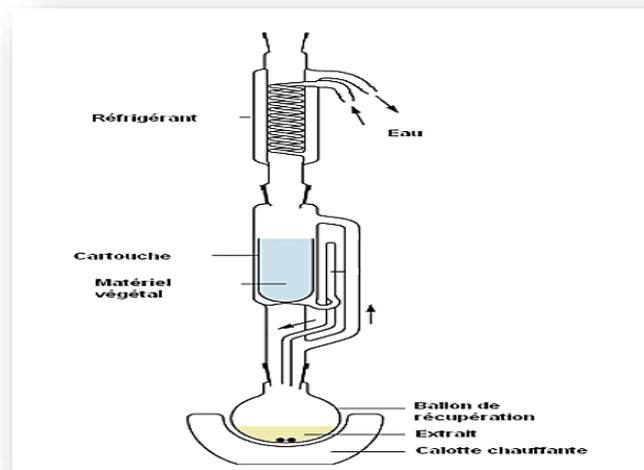


Figure 1.2 : Schéma de l'extracteur Soxhlet[2].

1.2.2 Procédés innovants

De nouvelles techniques respectant le concept et les principes d'extraction verte se sont développées justement pour pallier aux inconvénients des techniques traditionnelles d'extraction. Elles offrent ainsi de nombreux avantages tels que: une réduction du temps d'extraction, une diminution de la consommation d'énergie, une utilisation de petites quantités ou absence de solvant, etc.

Les procédés suivants sont parmi les plus courants actuellement et sont décrits brièvement comme suit:

A. Extraction assistée par micro-onde

Cette technique est aussi une alternative aux méthodes d'extraction conventionnelles. Elle consiste à irradier par micro-ondes de la matière végétale sans ou en présence d'un solvant, absorbant fortement les micro-ondes. Elle utilise de petites quantités de solvant, n'est pas coûteuse et est considérablement rapide.

B. Extraction par fluide supercritique

Actuellement les fluides supercritiques sont considérés des substituts aux solvants organiques, pour des procédés séparatifs, particulièrement ceux basés sur l'extraction.

Par conséquent l'extraction par fluide supercritique a remplacé différentes techniques classiques d'extraction liquide-solide [3] telles que celles basées sur les procédés de macération, percolation, lixiviation, extraction accélérée par solvant, etc. En effet, ces derniers possèdent un certain nombre d'inconvénients tant au niveau de la toxicité des

solvants, de la durée de l'opération, du coût, etc, que de la pollution de l'environnement. Par contre l'extraction par fluide supercritique peut apporter une amélioration nette du rendement d'extraction et compte tenu de la sélectivité du fluide supercritique, une amélioration tout aussi significative de la pureté de l'extrait. L'extraction sur de la matière solide est l'application la plus développée, dont la plupart des installations industrielles se trouvent dans le secteur des industries agroalimentaires. Parmi les applications les plus connues sont celles de l'extraction de la caféine du café [4] des arômes comme la baie rose, le gingembre, la vanille, etc. Cette technologie a été également appliquée à l'industrie du tabac qui élimine la nicotine de la cigarette, des caroténoïdes de la carotte du paprika, ou encore des polyphenols du vin, du thé ou des agrumes, les arômes du poivre, etc. Il faut cependant noter l'importance croissante des applications dans les industries pharmaceutiques telles que l'extraction ou la purification de principes actifs, l'élimination de solvants résiduels, etc. et aussi des applications de traitement des sols pollués par des produits toxiques peu biodégradables.

1.3 Fluides supercritiques

1.3.1 Historique

La notion de fluide supercritique est apparue au XIX^{ème} siècle [5]. En effet en 1822 Le physicien Baron Cagnard de Latour découvrit le point critique d'un corps pur en réalisant une expérience qui consista à placer une bille métallique dans une enceinte fermée et remplie d'alcool. A partir d'une certaine température, il observa que l'interface liquide-gaz disparut et que la bille peut se déplacer quasiment sans résistance [6].

En 1870, Thomas Andrews confirma l'existence de cette température critique lors de ses travaux sur les transformations du CO₂[6].

Ces découvertes motivèrent la recherche sur les fluides qui finalement, vraiment débutèrent dans les années 1930 et leurs applications sont arrivèrent dans l'industrie dans les années 1960 [4].

1.3.2 Définition

Un corps pur peut se trouver sous l'un des trois états physiques de la matière: solide, liquide et gazeux, comme montré sur le diagramme de phases de la figure (1.3), qui présente ces différents états de la matière en fonction de la pression et de la température [7] et où les trois régions correspondantes sont délimitées par les courbes d'équilibre (solide-gazeux, solide-liquide et liquide-gazeux) [7].

La courbe de vaporisation (liquide-gaz) présente un point d'arrêt appelé point critique, au-delà de ce point, le fluide est dit supercritique [8,9] et est caractérisé par la disparition de l'interface séparant les états liquide et gazeux [10].

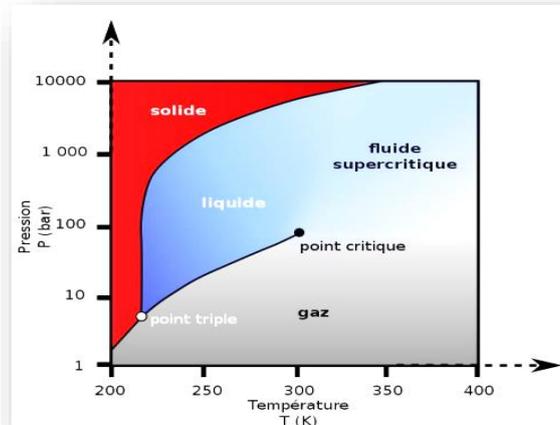


Figure 1.3 : Diagramme de phases d'un corps pur[11].

A titre d'exemple, le tableau suivant montre les coordonnées critiques des fluides le plus couramment utilisé [12]:

Tableau 1.1 : Température et pression critiques de fluides courants[12].

Type de fluide	Nom	Tc, K	Pc, MPa
Inorganique	Dioxyde de carbone	304.2	7.38
	Azote	126.2	3.39
	Argon	150.8	4.87
	Oxyde nitreux	309.6	7.24
	Ammoniac	405.6	11.28
	Hexafluorure de soufre	318.7	3.76
	Fréon 13	302.1	3.92
	Fréon 23	299.1	4.84
Hydrocarbures	Eau	647.1	22.05
	Méthane	190.5	4.60
	Éthane	305.4	4.88
	Éthylène	282.3	5.04
	Propane	369.8	4.25
	Butane	425.2	3.80
	Isobutane	408.2	3.65
	Pentane	469.7	3.37
	Méthyle cyclohexane	572.2	3.47
	Tetra lin	716.4	3.40
	Benzène	562.2	4.90
Composés oxygénés	Toluene	591.8	4.10
	Méthanol	512.6	8.09
	Éthanol	513.9	6.14
	Propanol	536.8	5.17
	Isopropanol	508.3	4.76

	Butanol	563.0	4.42
	Isobutanol	547.8	4.30
	p-Cresol	704.6	5.16
	Tetrahydrofuran	540.1	5.19
	Acétone	508.1	4.70
	Éthyle Acétate	523.2	3.83
	Éthyle Éther	466.7	3.64
Composés azotés	Pyridine	620.0	5.63
	Méthyle amine	430.0	7.46
	Éthyle amine	456.0	5.62
	Diméthyle amine	437.6	5.31

Le dioxyde de carbone est parmi les fluides le plus couramment utilisé à l'état supercritique. Ceci est justifié par de nombreux avantages qui ont motivé son utilisation à l'échelle industrielle dans de nombreux domaines tels que pharmaceutiques, cosmétiques et agro-alimentaires. C'est un solvant adéquat pour les molécules apolaires ou peu polaires tels que les lipides, le cholestérol, les aldéhydes, les éthers, les esters et les cétones, etc. Par contre les groupes de poids moléculaire élevé ou polaires tels que les groupes hydroxyle, carboxyle, les sucres, polysaccharides, acides aminés, protéines, phosphatides, glycosides, sels inorganiques, etc. sont relativement insolubles dans le dioxyde de carbone dense [7]. Il est relativement inerte, non couteux, non toxique, recyclable et ininflammable. Il a des propriétés critiques pas élevées (pression critique = 73.8 bar ; température critique = 31.2°C) et facilement accessibles[10] ce qui en fait un fluide assez approprié pour l'extraction de composés volatils ou thermolabiles [10]. Il est aussi possible de modifier et améliorer la sélectivité et la solubilité de ces composés polaires dans le dioxyde de carbone par simple ajout de co-solvants polaires.

1.3.3 Propriétés physico-chimiques

Les fluides supercritiques sont à la fois denses et compressibles puisqu'ils présentent des propriétés thermodynamiques intermédiaires entre celles des liquides et des gaz. Ainsi, ils ont une densité voisine de celle d'un liquide leur conférant ainsi un bon pouvoir solvant et en termes de transfert de matière, ils possèdent des caractéristiques proches de celles des gaz telles que la viscosité [10, 13].

Les fluides supercritiques ont la caractéristique d'avoir des propriétés ajustables non seulement par la température mais aussi par la pression, ce qui en fait des solvants à « géométrie variable ».

Le transfert de matière dépend de la solubilité du soluté dans le solvant où généralement la température et la pression ont une grande influence.

Pour un fluide supercritique à pression constante, l'élévation de la température engendre une diminution de la masse volumique, du pouvoir solvant et donc de la solubilité [13]. Cependant pour des valeurs assez élevées de la pression, une élévation de la température peut engendrer une meilleure solubilité du soluté dans le fluide supercritique. Par conséquent les effets de la température et la pression sont régis par un rapport de force entre le pouvoir solvant et la pression de vapeur du soluté [12,13].

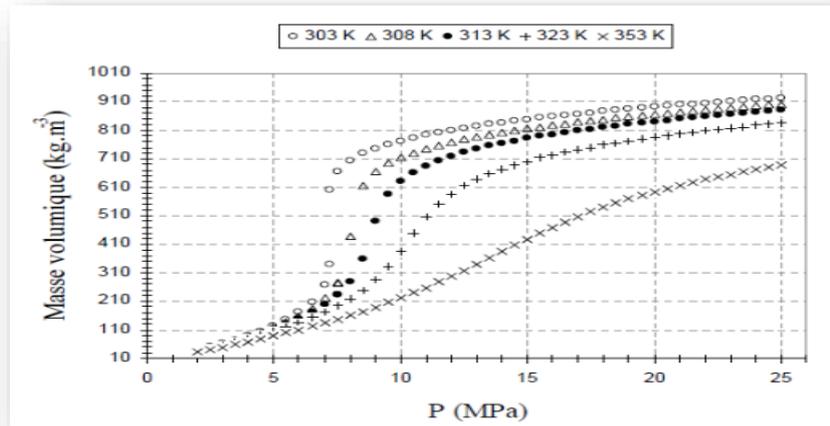
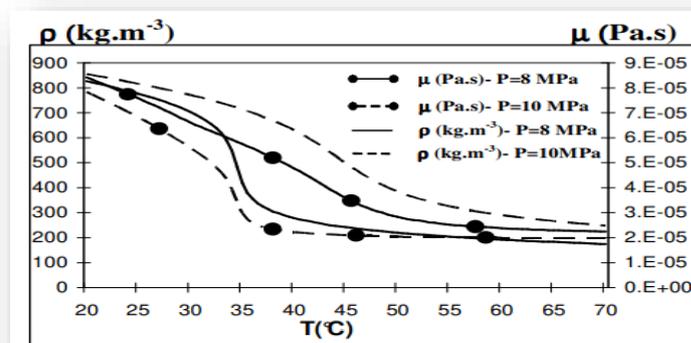
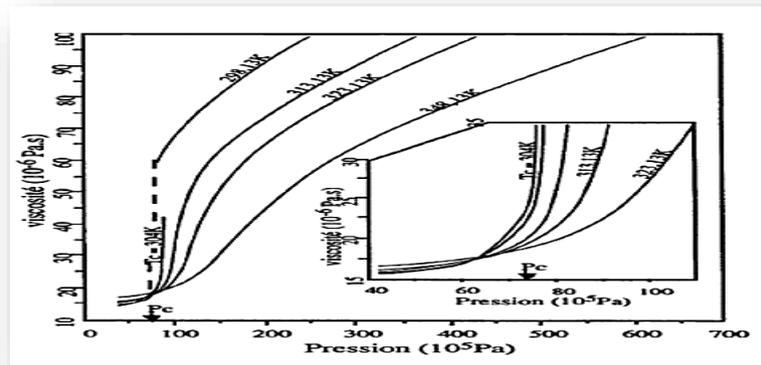


Figure 1.4 : Évolution de la masse volumique du CO₂ en fonction de la pression pour différentes températures[11].

Une faible valeur de la viscosité dynamique favorise le transfert de matière car elle permet une meilleure pénétration et mobilité du fluide dans le milieu Figure (1.5) montre l'évolution de la viscosité dynamique du CO₂ en fonction de la pression et de la température. L'augmentation de la pression à une température constante entraîne une augmentation de la viscosité dynamique. Par ailleurs, à une pression constante, lorsque la température augmente, cela implique une diminution de la viscosité dynamique



(a)



(b)

Figure 1.5 : Évolution avec la température de la viscosité dynamique et de la masse volumique, à 80 et 100 bars : a)[12] ; b)[1].

Le transfert de matière dépend également du coefficient de diffusion. Il augmente avec la température mais diminue lorsque la pression augmente.

En raison de leur faible viscosité dynamique et de leur diffusivité plus élevée que celle des liquides, les fluides supercritiques présentent un grand intérêt pour les applications telles que l'extraction ou fractionnement, les traitements de solides (nettoyage, imprégnation, micronisation, etc.), la synthèse organique, la chromatographie, etc.

Un autre moyen d'agir sur la solubilité d'un composé dans un fluide supercritique consiste en l'ajout d'un co-solvant, aussi appelé modificateur. L'objectif de l'utilisation d'un co-solvant est d'améliorer la solubilité des composés en conférant une certaine polarité au solvant supercritique seulement. L'influence du co-solvant sur la solubilité d'un soluté dans le fluide supercritique permettra de travailler avec des conditions opératoires de température et de pression modérées diminuant l'apport d'énergie nécessaire.

En résumé, le fluide supercritique possède plusieurs propriétés favorables comparativement à un liquide conventionnel dont les plus importantes sont les suivantes [7]:

1. Un grand coefficient de diffusion et absence de tension de surface;
2. Une faible viscosité;
3. Une masse volumique importante;
4. Une vitesse de dissolution importante;
5. Une solubilité manipulable par variation de la température ou la pression, facilitant la récupération de la substance dissoute;

6. Des propriétés physiques ajustables par simple changement de pression et/ou de température.

Par conséquent il peut facilement être constaté que les fluides supercritiques montrent des propriétés très importantes pouvant être exploitées par un grand nombre de procédés. Cependant il est doit être souligné que le CO₂ supercritique est le fluide le plus fréquemment utilisé et donc il est peut-être utile de discuter brièvement les facteurs motivant son utilisation.

1.3.4 Le CO₂ supercritique

La quasi majorité des procédés d'extraction à fluide supercritique utilise le dioxyde de carbone. Ce choix est essentiellement guidé par plusieurs facteurs dont les plus importants sont les suivants:

- Des propriétés critiques relativement pas très élevées avec une température et une pression de 31.1°C et de 73.8 bar, respectivement, ce qui en fait un fluide assez adéquat pour des systèmes sensibles surtout à la température (thermolabiles) et qui sont assez courants dans les industries sensibles telles que pharmaceutiques et agroalimentaires.
- Des propriétés physiques très intéressantes point de vue environnement et aussi santé. En effet il n'est pas toxique, non-inflammable, ne présente pas de risques d'explosion, inerte, inodore, etc.
- Aspects économiques: il est assez abondant naturellement et par émissions de certaines industries comme celles du ciment, de la synthèse de l'ammoniac, etc. Il n'est pas aussi coûteux et peut facilement être considéré comme un solvant 'vert'.

1.3.5 Application des fluides supercritiques

Les propriétés des fluides supercritiques énumérées ci-dessus peuvent être exploitées positivement pour certaines applications ou procédés, particulièrement l'extraction à fluide supercritique, non conventionnelle qui est l'objet de la présente étude. Les applications les plus importantes exploitent surtout le fait que la diffusivité et la masse volumique soient assez élevées et que la viscosité et la tension de surface soient assez faibles [5].

Un avantage non négligeable pouvant être exploité par des applications basées sur l'extraction à fluides supercritiques est celui de la flexibilité des procédés correspondants par rapport à ceux conventionnels. Ceci est dû à la possibilité de contrôler le pouvoir solvant

et donc la sélectivité du fluide supercritique en manipulant les conditions de température et pression [7]. La possibilité aussi d'éliminer totalement le fluide supercritique après extraction par simple détente, permet d'avoir des extraits très purs, contrairement aux soucis d'élimination des traces de solvant organiques toxiques lors des procédés classiques. Ces atouts permettent d'obtenir des composés peu courants avec des caractéristiques ayant un impact très faible sur l'environnement, la santé et la sécurité ainsi qu'une faible consommation d'énergie.

Toutefois il faut noter que la technologie des fluides supercritiques est considérée comme assez coûteuse en raison des investissements importants liés aux équipements. Cependant le développement des procédés utilisant des fluides supercritiques avec certaines modifications a fait que les investissements soient maintenant amortis à moyens et même à court termes.

Actuellement la technologie des fluides supercritiques est de plus en plus adoptée par l'industrie, impliquant plusieurs procédés tels que l'extraction, le fractionnement, la chromatographie, la cristallisation, la micronisation, l'imprégnation, etc. Ils sont aussi utilisés comme milieu réactionnel, en particulier pour l'hydrogénation, la synthèse de composés pharmaceutiques, ou comme milieu de stérilisation ou de nettoyage.

Cette technique peut également être adoptée pour le traitement et la valorisation des déchets issus du procédé d'extraction par fluide supercritique. A titre d'exemples les déchets toxiques, tels que les PCB ou les déchets radioactifs, peuvent être traités par oxydation à eau ou CO₂ supercritiques; la décontamination des sols peut aussi être menée efficacement par utilisation de fluides supercritiques.

A. Applications alimentaires, nutraceutiques et cosmétiques

La technologie des fluides supercritiques est désormais l'un des principaux outils de traitements des ingrédients alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques. Elle permet de développer des produits à haute valeur ajoutée dotés de nouvelles propriétés. De plus, les compléments alimentaires et nutraceutiques conservent leur caractère naturel alors que les produits phytopharmaceutiques préservent surtout un caractère plutôt chimique.

Dans la littérature, plusieurs procédés à fluides sont décrits et qui impliquent surtout des composés issus des secteurs agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques, tels qu'à titre d'exemples:

- Les agents de texture et les agents moléculaires amphiphiles, les principes actifs, les vitamines ou antioxydants de végétaux, pigments;
- Les lipides polaires de céréales;
- L'élimination des pesticides sans détruire les propriétés des végétaux;
- Les Arômes et parfums de qualité supérieure (vanille, jasmin ...);
- Le séchage des aliments pour une conservation de qualité;
- La décontamination des aliments;

B. Santé et application pharmaceutique

Le secteur de la santé peut également être un grand utilisateur des fluides supercritiques surtout en ce qui concerne les procédés d'extraction des principes actifs d'origine naturelle ou synthétique, ainsi que leur purification. A titre d'exemples les applications à caractère pharmaceutique, suivantes peuvent être citées:

- Extraction et purification d'extraits à partir de plantes médicinales;
- Élimination des solvants résiduels contenus dans des drogues synthétiques (antibiotiques) ;
- Élimination des monomères ou autres polluants toxiques contenus dans les biomatériaux (polymères, prothèses et implants), les produits cosmétiques, etc. Les fluides supercritiques offrent aussi la possibilité de stériliser les dispositifs médicaux.
- Micronisation pour générer des particules de tailles très petites. C'est une autre application assez importante;
- Chromatographie où la phase mobile est le fluide supercritique qui percole la phase stationnaire solide sous l'effet d'un gradient de pression. La chromatographie avec fluide supercritique est plus rapide que la chromatographie en phase liquide. Les pics générés sont plus étroits car la diffusion est plus rapide, la viscosité plus faible et une perte de pression amortie.

1.4 Revue de l'extraction supercritique

Comme déjà mentionné ci-dessus l'utilisation des fluides supercritiques, notamment le dioxyde de carbone, a reçu une grande attention dans divers domaines (agroalimentaire, médical, pharmaceutique, cosmétique, etc.), surtout pour le procédé d'extraction. Elle est une alternative aux méthodes traditionnelles qui ont de nombreuses contraintes d'ordre environnemental, sanitaire, opération du procédé, économique, etc. Ceci a été confirmé par

les travaux de plusieurs chercheurs, basés sur des comparaisons de l'extraction à fluide supercritique avec quelques techniques conventionnelles.

En effet Doneliane et al (2009) ont considéré l'extraction d'huile essentielle de Patchouli. Cette huile est utilisée comme additif naturel pour l'aromatisation des aliments, en plus d'être une matière première importante pour les industries de la parfumerie et du cosmétique. Ils ont comparé les procédés d'extraction par CO₂ supercritique et par distillation à la vapeur, en termes de rendement où celui correspondant au procédé supercritique (5.07%) a été nettement supérieur à celui par distillation à la vapeur. Ceci est dû au fait qu'avec l'extraction à fluide supercritique une optimisation des conditions opératoires a donné des valeurs de 40°C et de 14 Mpa pour la température et la pression, respectivement, d'où le très grand avantage de l'extraction à fluide supercritique [14].

L'application de l'extraction au dioxyde de carbone supercritique a aussi été étudiée par Bimkr et al. (2013) pour séparer des composés précieux issus des graines de *Benincasa hispida* [15]. Un travail d'optimisation par le biais de la méthodologie des surfaces de réponses a donné des conditions optimales de 234.25 bars, 46°C et 95.05 min. pour la pression, la température et le temps d'extraction dynamique, respectivement pour un rendement d'extraction brute de 174.91 mg /g [15].

Les valeurs d'efficacité de différentes techniques respectueuses de l'environnement, notamment l'extraction assistée par ultrasons, l'extraction par dioxyde de carbone supercritique et l'extraction de dioxyde de carbone supercritique combinée à la technique de transfert de pression, ont été comparées pour la séparation de composés précieux issus de graines de melon d'hiver (*Benincasa hispida*). Leurs résultats ont bien montré que la qualité et la quantité des extraits dépendaient en grande partie de la technique d'extraction utilisée. Par exemple des variations notables par rapport au rendement d'extraction brut, liées à l'activité antioxydante, donc au contenu phénolique total de l'extrait de graines de *Benincasa hispida*, ont été observées d'une technique d'extraction à l'autre. Le rendement d'extraction brut le plus élevé a été obtenu par extraction par Soxhlet mais avec une séparation plus faible des composés bioactifs, car ils sont des composés thermosensibles et peuvent être dégradés au cours du procédé. Par contre, l'utilisation de l'extraction assistée par ultrasons, de l'extraction par CO₂ supercritique et de l'extraction avec CO₂ supercritique combinée à la technique de transfert de pression ont donné une réduction du rendement d'extraction brut mais avec une meilleure qualité en termes de séparation de précieux composés bioactifs [15].

Piggott et al. (1997) ont étudié différentes méthodes d'extraction, notamment la distillation à la vapeur d'eau, l'extraction au solvant, l'extraction au fluide supercritique et l'extraction au CO₂ liquide pour obtenir l'huile volatile à partir de bois de santal australien occidental. Ils ont révélé que les rendements les plus élevés en matière extractible et en composés volatils totaux ont été obtenus avec l'extraction avec CO₂ supercritique [16].

Des techniques ont été testées sur des larves de *Musca domestica*, *Spodopteralittoralis*, *Culex quinquefasciatus* et *Leptinotarsa decemlineata* et sur des adultes de *M. domestica*. La composition en composés volatils des extraits a été déterminée et l'efficacité de l'extrait obtenu avec du CO₂ supercritique à 12 MPa et à 50°C a été comparable à celle de l'hydrodistillat et supérieure à celle des autres extraits, tandis que son rendement d'extraction a été supérieur de 73% à celui de l'hydrodistillat [17].

La solubilité de certains solides augmente considérablement dans le dioxyde de carbone supercritique en ajoutant de petites quantités de divers co-solvants. Pour l'acide 2-aminobenzoïque, l'ajout de seulement 3.5% en moles de méthanol a augmenté la solubilité de 62% [18].

Une étude paramétrique incluant des paramètres tels que la taille des particules, la température, la pression et le temps d'extraction a été menée concernant l'extraction au dioxyde de carbone supercritique de beurre de cacao sous forme de graines de cacao afin de déterminer les conditions optimales d'extraction dans des intervalles de température de 35 à 55 ° C, de pression de 5 à 20 MPa et une durée d'extraction de 2 à 8 heures l'efficacité d'extraction a été de 5.2% suggérant que le CO₂ pur n'est pas un solvant assez approprié pour l'extraction du beurre de cacao dans la gamme de paramètres étudiée et donc l'utilisation d'un co-solvant ou d'un solvant pur a été suggérée. L'éthanol a été utilisé comme co-solvant de 2% à 10% en poids et l'efficacité d'extraction a augmenté jusqu'à un maximum de 16%, ce qui est supérieur à celle du CO₂ pur, mais pas suffisamment. En utilisant de l'éthanol pur comme solvant, une efficacité d'extraction de 53% a été obtenue en une seule étape [19].

La qualité des extraits de plantes brésiliennes sélectionnées a été évaluée pour leur activité antioxydante sur la base aussi d'une évaluation économique du procédé d'extraction supercritique. Pour cela les rendements globaux de ces plantes ont été déterminés à 323 K et 35 MPa en utilisant du CO₂ pur et avec de l'éthanol (10%) comme modificateur. L'activité antioxydante a été déterminée par la capacité de liaison du DPPH à radicaux libres (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl). Le logiciel Super Pro designer 6.0 a été utilisé pour simuler le

processus. Les résultats ont indiqué que tous les rendements globaux ont augmenté avec l'utilisation d'éthanol en tant que co-solvant au lieu de CO₂ pur pour obtenir des extraits riches en d'antioxydants par extraction à fluide supercritique. Selon le processus de simulation, tous les extraits obtenus avec l'addition de co-solvant ont présenté une valeur de COM inférieure[20].

Le lycopène et l' α -carotène ont été extraits de déchets de pâte de tomate à l'aide de dioxyde de carbone supercritique. Pour optimiser les résultats d'extraction par fluide supercritique pour l'isolement du lycopène et de l' α -carotène, une expérience factorielle a été réalisée. Les facteurs évalués ont été la température de l'extracteur (35, 45, 55 et 65 ° C), la pression du fluide d'extraction (200, 250 et 300 bars), l'addition de cosolvant (5, 10 et 15% d'éthanol), le temps d'extraction (1, 2 et 3 h) et le débit de CO₂ (2, 4 et 8 kg/h). Les quantités totales de lycopène et d' α -carotène dans les déchets, extraits et résidus de pâte de tomate ont été déterminées par HPLC. Un maximum de 53.93% de lycopène a été extrait par CO₂ supercritique en 2 h (débit de CO₂ 4 kg/h) à 55°C et 300 bars, avec addition de 5% d'éthanol en tant que co-solvant. La moitié de l' α -carotène initialement présente a été extraite en 2 h (débit 4 kg/h), à 65°C et à 300 bars, également avec addition de 5% d'éthanol.

Des extractions en l'absence d'éthanol ont permis des récupérations de 20 et 40% de lycopène et d' α -carotène, respectivement, tandis qu'une addition de 5% d'éthanol a entraîné des récupérations de 50% pour les deux espèces.

Les résultats présentés ici et les valeurs trouvées dans la littérature indiquent que des pressions d'extraction jusqu'à 400 bars peuvent donner des rendements plus élevés[21].

Finalement le tableau suivant présente d'une manière simplifiée quelques travaux ayant été réalisés en 2021 et 2022, concernant l'extraction d'huile à partir de plantes naturelles, afin de bien voir quelques aspects pratiques du procédé d'extraction avec fluide supercritique. Le tableau (1.2) montre aussi les capacités de cette technique et aussi l'importance des résultats pouvant être transposés à l'échelle industrielle pour les secteurs très sensibles cités précédemment.

Tableau 1.2 : Travaux d'extraction d'huile à partir de plantes naturelles réalisées en 2021 et 2022.

(زعتري صخري) <i>Thymus mastichina</i> L[22]	
Conditions opératoires	P= 80 bar, T= 50 °C, m= 30 g (matière sèche ou fraîche)
Rendement %	16.25 (fraîche), 3.02 (sèche)

objectifs	<ul style="list-style-type: none"> • Comparaison des performances des extraits issus des matières sèches et fraîches ; • Additifs aromatisants pour les produits alimentaires.
propriétés	<ul style="list-style-type: none"> • Antimicrobienne contre les agents pathogènes alimentaires courants ; • Aromatisantes dans les aliments dû aux composés terpénoïdes (le thymol, le carvacrol, le p-cymène)
Observations	--
(زعتر) <i>Origanum vulgare</i> L 2021[23]	
Conditions opératoires	Prétraitement aux micro-ondes à différentes puissances d'irradiation sur les matériaux trempés dans H ₂ O et sur les matériaux secs, T=40°C, P=200 bars, t= 4 h
Rendement %	1.Brut : 3.39, P Enz ^a : 6.59 ; P1Mw: 7.25 (2min, 360W); 2.P2Mw ^b : 4.23 (2min, 800W), P3Mw: 1.65, (2min, < 360W). ^a Enzymatique ^b Microwave
objectifs	Amélioration de l'efficacité d'extraction de la fraction lipophile de l'origan; <ul style="list-style-type: none"> • Application et évaluation de l'impact des prétraitements micro-ondes et enzymatiques sur le rendement d'extraction supercritique avec CO₂ et profil chimique des extraits
propriétés	<ul style="list-style-type: none"> • Pression de 200 bars pour diminuer l'extraction des cires ; • Prétraitements avec micro-ondes et enzymatiques pour l'amélioration du rendement et la qualité des extraits ; • Prétraitement par micro-ondes plus efficaces et un temps plus court de par une meilleure distribution de l'énergie au matériau ; • Prétraitement enzymatique ne présente pas d'augmentation de température mais un temps plus long.
Observations	L'origan représente une ressource naturelle très importante largement utilisée comme parfum dans l'industrie cosmétique et de la parfumerie. De plus, c'est l'une des saveurs les plus couramment utilisées dans différentes cuisines. En plus d'être un ingrédient alimentaire, aromatique et cosmétique, l'application médicinale de l'origan et de ses composés est très importante et répandue en raison de ses activités antimicrobiennes, antioxydantes, anticancéreuses et anti-inflammatoires. <ul style="list-style-type: none"> • Extractions à 40 °C pour éviter la volatilisation et la décomposition des composés thermiquement instables.
(الطحالب) <i>Schizochytrium</i> sp (algues) 2021[24]	
Conditions opératoires	T= 55–75°C , P = 42.5–55 MPa , Q=5 L/min ; V (co-solvant) =1.25ml/min; T=30 min.
Rendement %	Les conditions optimales : P= 46.52 MPa , T=76.86 °C , 19.40 % de lipides et 41.17% de DHA. Avec l'éthanol comme co-solvant, des rendements de 20.65 %, avec 41.12 % de DHA ont été atteints dans le même temps. Le broyage en tant que prétraitement a augmenté l'efficacité d'extraction de 30 à 76 %
objectifs	l'objectif principal l'application de différents prétraitements et l'étude de l'influence de paramètres opératoires (la pression et la température) sur les rendements en lipides et la concentration en acide docosahexaénoïque (DHA)
propriétés	<i>Schizochytrium</i> est une source potentielle d'acides gras polyinsaturés, principalement du DHA qui a des effets significatifs sur la santé humaine, tels que le développement de la fonction cérébrale et du système nerveux central chez les

	nourrissons et le maintien d'une fonction cérébrale normale chez les adultes, réduit le développement de certains cancers, aide à prévenir des maladies cardiovasculaires, le diabète de type II et l'inflammation, etc.
Observations	Un prétraitement préalable, a montré une augmentation significative du rendement en lipides sans affecter la teneur en DHA. Bien que l'ajout d'éthanol ait considérablement augmenté les rendements en lipides lors de l'extraction avec des fluides supercritiques, sa présence a diminué la solubilité des acides gras dans le CO ₂ .
(زهور النرجس الشعاعي) Fleurs de <i>Narcissus poeticus</i> 2022 [25]	
Conditions opératoires	T = 40°C , t= 120 min , p [12-48 MPa] , EtOH = 5% à P=48 MPa
Rendement %	R [1.63 à 2.36 %] sans co-solvant ; avec co-solvant R= 3.12%
objectifs	Évaluation des effets de la pression et de l'ajout de co-solvant dans l'extraction à CO ₂ supercritique à partir de fleurs de <i>Narcissus Poeticus</i> lyophilisées.
propriétés	C'est source riche en produits pharmaceutiques potentiellement précieux, tels que les alcaloïdes galanthamine, lycorine, isoquinoléines narciclasine, pancratistatine, (E)-dihydronarciclasine, etc., efficaces pour le traitement de la maladie d'Alzheimer et des maladies oncologiques
Observations	Les composés aromatiques constituent le groupe le plus important de composés volatils dans les extraits de <i>Narcissus Poeticus</i> . Les extraits contiennent une grande fraction de cires, qui ne sont pas souhaitables dans la production d'ingrédients parfumés de qualité supérieure. Cependant, l'ajout d'un co-solvant éthanol a permis de réduire le pourcentage d'alcanes supérieurs, tandis que la quantité d'aromatiques récupérés a augmenté
(عود الملك) <i>Dipteryx alata vogel (baru)</i> 2022[26]	
Conditions opératoires	m = 18 g , t= 4h , Q= 3 mL/min , T = 50-70°C , P=10-30 MPa , Plan factoriel fractionnaire (2 ⁴⁻¹)
Rendement %	Avec co-solvants polaires, R [4.16 à 31.06 g/100 g] ; Avec CO ₂ supercritique pur R [4.03 à 36.93 g/100 g]
objectifs	Étude des effets de la pression, de la température, du type (alcool et/ou eau) et de la concentration du cosolvant polaire sur le rendement d'extraction et la teneur en tocophérol de l'huile de baru obtenue par extraction au CO ₂ supercritique; Étude aussi de l'effet de la température et de la pression sur le profil des composés phytostérols, phénoliques et volatils dans l'huile lorsque H ₂ O est utilisée comme co-solvant.
propriétés	Activité antioxydante
Observations	L'extraction des composés bioactifs dans l'huile de baru a été améliorée par l'utilisation de H ₂ O dans le CO ₂ supercritique et a été modulée par la température et la pression dont des. plus basses ont favorisé l'extraction d'un meilleur rapport γ -/ α -tocophérol, en plus de conduire à des teneurs plus élevées en phytostérols et composés phénoliques
(جوز الهند) <i>Cocos nucifera Linn (Coco vierge)</i> 2021[27]	
Conditions opératoires	Extraction par Soxhlet: 10g dans 250 ml n-hexane ; t=6h Extraction par CO ₂ supercritique: m = 60 g , P = 20 et 30 MPa , T [30,40 et 50°C], t [1 - 1,5h] Q= 10 g/min
Rendement %	R _{soxhlet} = 30.23%, R _{Extraction à CO₂ supercritique} 28.84 % à 60°C et 300 bars

objectifs	Étude de la qualité de l'huile obtenue avec différentes techniques d'extraction et détermination de la meilleure méthode pour obtenir de l'huile de coco (Presse à froid, Soxhlet, Extraction par fluide supercritique).
propriétés	Cures anti-obésité; diminue le taux de cholestérol; réduit le risque de maladies cardiovasculaires.
Observations	La quantité d'huile à obtenir varie également considérablement selon la méthode d'extraction et le type de solvant. Le rendement le plus élevé en huile est obtenu en utilisant le n-hexane qui est un solvant non polaire capable de dissoudre les graisses, surtout lorsque le procédé est couplé à une exposition prolongée à la chaleur et à temps d'extraction dans l'appareil Soxhlet important.
(اللسينة المتدليلة) <i>Glechoma hederacea</i> 2022[28]	
Conditions opératoires	m = 5 g, P= 250 bars, T [40, 50, 60°C], Q _{CO2} = 4 mL/min, Q _{MeOH} = 1 ml/min , t= 180 min
Rendement %	R = 9.58% avec la valeur de TPC la plus élevée (138,33 5,00 mg GAE/g) à 40°C et 250 bar
objectifs	Évaluation du contenu phénolique total, les activités antioxydantes, antimicrobiennes et antibiofilm des extraits obtenus à partir de <i>Glechomahederacea</i> par extraction au CO ₂ supercritique avec du méthanol comme co-solvant dans différentes conditions d'extraction.
propriétés	Effets antibactériens, anti-mélanogènes, anti-inflammatoires, antigénotoxiques, antimutagènes, génotecteurs et antitumoraux
Observations	L'activité des extraits obtenus par extraction au CO ₂ supercritique dépend de la température d'extraction. La teneur en polyphénols totaux significativement plus élevée, ainsi qu'une activité antioxydante et antimicrobienne vis-à-vis des bactéries et des levures à 40 °C par rapport aux extraits sont obtenues à 50°C et 60°C
(الأركان) <i>Argania spinosa</i> L. 2021[29]	
Conditions opératoires	Extraction par CO ₂ supercritique : T [313-333 k] , P [200-400 bars] , Q = 0.14 kg/h , m = 6 ou 7 g Extraction par Soxhlet : m=7.34 et 14.77 g , t= 5 et 8 h , solvant (n-hexane)
Rendement %	R _{soxhlet} 0.7 et 0.59 kg huile/kg biomasse, après 5 et 8 h, respectivement, R _{extraction CO2 supercritique} = 0.63 kg huile/ kg biomasse
objectifs	Compléter les études portant sur l'extraction d'huile à l'aide de CO ₂ supercritique à partir d'amandons d'arganiers non torréfiés et torréfiés en fournissant des informations utiles sur la cinétique d'extraction, la solubilité de l'huile d'argan dans le CO ₂ supercritique, l'analyse de l'huile et la modélisation de la cinétique.
propriétés	Antioxydante; Principalement utilisé dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques au Maghreb et en Europe
Observations	La meilleure cinétique d'extraction est obtenue à 333 K et 300 et 400 bars, la solubilité la plus élevée dans le CO ₂ supercritique a été obtenue à 400 bars et 333 K.

1.5 Les plantes considérées dans cette étude

Cette deuxième partie présente une description des deux plantes naturelles locales qui ont été considérées dans ce travail et qui sont: *Peganum harmala* et *Plantago Ovata*.

Différents aspects rapportés de la littérature sont discutés pour mettre en évidence leur importance.

En effet ces plantes ont montré leurs potentiels vis-à-vis de certaines applications, particulièrement médicinales et agroalimentaires, par le biais d'études traditionnelles et classiques. Cependant le nombre assez restreint d'études basées sur la technique d'extraction avec CO₂ supercritique a été un facteur motivant quant à leur choix dans ce travail.

1.5.1 Description de la plante *Peganum harmala* L.

A. Généralités

Peganum harmala L. est une plante de la famille des Zygophyllacées dont les membres sont identifiés par l'apparition sous formes d'herbes, d'arbustes ou d'arbres. Cette famille compte environ 285 espèces réparties en cinq sous-familles et 27 genres [30]. Elles sont largement réparties dans les régions arides, semi-arides, les terrains salés, et les pâturages désertiques [31]. Le genre *P. harmala* tient son nom du grec et est attribué aux espèces de la rue, alors que le nom de l'espèce *harmala* dérive de celui de la ville Libanaise Hermel.

B. Caractéristiques botaniques

L'Harmel est une plante herbacée, vivace, glabre, buissonnante de 30 à 90 cm de hauteur, à odeur forte et désagréable. Les tiges portent des feuilles découpées en lanières étroites. Les fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm) sont d'un blanc-jaunâtre veinés de vert.

Les graines sont nombreuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé et ont une saveur amère. Elles sont récoltées en été avec le tégument externe de la graine renfermant un pigment rouge. Cette plante se développe surtout dans les zones arides et sur les sols sableux [32].

Les fleurs apparaissent par une à trois sur les apex des branches qui portent des pétales jaunes blanchâtres, et les fruits sont des capsules globulaires à 3 chambres, de 0.9 à 1.3 cm de diamètre et contenant 35 à 45 graines anguleuses noirâtres [33]. Diverses parties de *Peganum harmala* sont montrées ci-dessous avec: (a) Feuilles et fleurs, (b) Fruits, (c) Graines.



Figure 1.6 : *Peganum harmala*[33].

A. Classification botanique

Bien qu'elle appartienne à la famille des *Zygophyllaceae*, sa position taxonomique est encore discutable d'où la proposition de sa classification en une famille séparée, *Nitrariaceae* pour ce genre [32]. Cette classification est comme suit:

1. **Embranchement :** *Spermatophytes*
2. **Sous embranchement :** *Angiospermes*
3. **Classe :** *Dicotylédones*
4. **Sous classe :** *Rosidae*
5. **Ordre :** *Sapindales*
6. **Famille :** *Zygophyllaceae*
7. **Genre :** *Peganum*
8. **Espèce :** *Peganum harmala* L

• Nomenclature et appellation

1. **Nom latin:** *Peganum harmala*
2. **Nom commun:** Rue sauvage; Rue verte; Pégane.
3. **Nom vernaculaire :**
 - 1) Harmel; Armel; l'harmel (Afrique du Nord),
 - 2) Pégane et Rue sauvage (en France),
 - 3) Harmel Sahari (en Algérie),
 - 4) Bender tiffin (en Maroc),
 - 5) Bizr el harmel (en Égypte),
 - 6) Espand, Espand (Iran),
 - 7) Africain Rue, Mexicain Rue ou Turkish Rue (Etats-Unis),
 - 8) yüzerlik or üzerli (en Turquie).

D. Répartition géographique

Peganum harmala est aussi communément appelée «rue syrienne», «rue africaine», ou tout simplement « Harmal ». C'est une plante à fleurs à croissance sauvage, très présente en Afrique du Nord, dans les pays méditerranéens, au Moyen-Orient (Tunisie, Sahara septentrional et central en altitude, Hauts-Plateaux algériens et Oranie, Maroc oriental), Asie [31,32] à l'Extrême-Orient comme le sud de l'Iran, le Pakistan et l'Inde [34,35]. Il est également présent dans des pays comme l'Amérique et l'Australie [30,31], [35].

En Algérie, *Peganum harmala* est répandu dans le nord et le sud du Sahara, dans les hauts plateaux et dans les montagnes du Sahara central célèbre pour ses terres sablonneuses, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations.

E. Composés phytochimiques

Les composés phytochimiques de *P. harmala* communément connus sont les alcaloïdes, les flavonoïdes et les anthraquinones. Ces alcaloïdes comprennent les β -carbolines telles que l'harmine, l'harmaline (identique à l'harmidine) l'harmalol et les dérivés d'harman et de quinazoline ; la vasicine et la vasicinone [31]. La teneur totale en alcaloïdes de *P. harmala* varie entre 2 et 5 % [37]. L'harmaline, l'harmine, l'harmalol, l'harmol et la tétrahydroharmine sont identifiés et quantifiés comme les principaux alcaloïdes β -carbolines dans les extraits de *P. harmala*. Les graines et les racines contiennent les niveaux les plus élevés d'alcaloïdes avec de faibles niveaux dans les tiges et les feuilles, et absents dans les fleurs. L'harmine et l'harmaline s'accumulent dans les graines sèches à 4.3 et 5.6 % (p/p), respectivement harmalol à 0.6 % et tétrahydroharmine à 0.1 % (p/p). Les racines contiennent de l'harmine et de l'harmol avec 2.0 et 1.4% (p/p), respectivement. La péganine, l'isopéganine, la dipéganine et la désoxypéganine sont également identifiées chez *P. harmala*.

L'harmaline (harmidine) a été isolée pour la première fois des graines et des racines de *P. harmala* et est le principal alcaloïde de cette plante. L'harmine (banisterine) est également présente dans *P. harmala* et ressemble d'un point de vue pharmacologique à l'harmaline dans ses actions, mais est moins toxique.

L'harmalol est également présent dans cette plante et son éther méthylique est l'harmaline. La vasicine et la vasicinone sont des alcaloïdes de la quinazoline et ont été découvertes pour la première fois dans les fleurs et les tiges de *P. harmala*. Un nouvel

alcaloïde β -carboline, harmalidine et pégamine qui est similaire aux alcaloïdes quinazolines ont été isolés des graines et des parties aériennes de *P. harmala* [36].

F. Utilisation traditionnelle

La plante présente un intérêt en médecine traditionnelle où les graines sont depuis longtemps utilisées. *Peganum harmala* a été traditionnellement utilisé pour traiter le diabète dans certains pays.

En médecine traditionnelle, *Peganum harmala* a aussi été utilisé pour traiter certains troubles du système nerveux tels que la maladie de Parkinson, dans des conditions psychiatriques telles que la nervosité [31, 33, 38].

Les autres utilisations traditionnelles les plus importantes de *Peganum harmala* sont d'ordre cardiovasculaires, gastro-intestinales, nerveuses, endocriniennes, néoplasmes et tumeurs, analgésique, diabète, maladies respiratoires, désinfectant, antipyrétique, peau et cheveux, ulcères, rhumatismes [38], arthrite et inflammation [33].

Une autre utilisation traditionnelle a un lien avec la coloration des tapis où un colorant rouge obtenu à partir des graines de *Peganum harmala* est largement utilisé en Turquie et en Iran [31].

G. Utilisations pharmacologiques

Ces utilisations sont dues à la composition exceptionnelle en alcaloïdes des extraits et à leurs diverses activités biologiques intéressantes [31, 34, 39]. Plusieurs études ont décrit différentes activités pharmacologiques telles que antioxydante [40,41], antibactérienne [38], propriétés anti-inflammatoires [41], activités antihistaminiques, antituberculeuses, effets anti-nociceptifs [36], [40,41], guérison leucémique, etc. De plus, il a été rapporté que cette plante a un effet hypoglycémiant, antifongique [41] et effets antiviraux [36], [42]. C'est aussi une source potentielle de pigments et d'huiles essentielles potentiellement intéressantes pour les industries alimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques[43].

1.5.2 Description de la plante *Plantago ovata*

La plante *Plantago ovata*, un du genre *Plantago ovata* appartenant à la famille des *plantaginaceae* qui comprend environ 275 espèces annuelles et vivaces. Les plantes de ce genre sont réparties pratiquement partout dans le monde [44, 45], en raison de leurs importants aspects médicaux et économiques qui leur donnent une grande utilité pour les industries pharmaceutiques, cosmétiques et alimentaires [46].

A. Caractéristiques botaniques

Les plantes réelles de *psyllium* poussent jusqu'à 15 cm de haut et sont couvertes de poils blancs et flous perpendiculaires, aux tiges et aux feuilles. Les feuilles sont étroitement linéaires, basales et vertes et forment des épis de petites fleurs qui mûrissent en gousses. Les graines sont petites (1.5-2 cm) et brunes ou d'un brun rougeâtre. Les graines de cette plante constituent une grande quantité de mucilage et de matière albumineuse. Elles sont séchées et broyées pour séparer l'enveloppe.

L'Inde est le plus grand producteur de psyllium et fournit environ 85 % du psyllium disponible sur le marché mondial. L'Amérique est le plus grand importateur mondial de graines de psyllium brutes et de ses autres sous-produits et jusqu'à 60% de son psyllium importé est utilisé par les industries pharmaceutiques et alimentaires [47].



Figure 1.7 : Graines de *Plantago ovata*.

- **Nomenclature**

1. **Nom scientifique:** *Plantago psyllium* L.
2. **Synonyme scientifique:** *Plantago afra* L., *Plantago ovata* F.
3. **Nom populaire:** *Plantago indien, Ispagula, Psyllium, Ispaghula.*
4. **Famille:** *Plantaginacées.*
5. **Partie utilisée:** la graine.

Depuis des siècles, les espèces de *Plantago* sont utilisées en médecine traditionnelle en raison de leurs diverses propriétés. Toutes les parties de la plante (feuilles, graines et écorce) sont utilisées et sont riches en composés bioactifs et différents métabolites primaires et secondaires, parmi lesquels les plus abondants sont les acides gras, les acides aminés, les flavonoïdes et les polyphénols [44,45], ces derniers possédant d'immenses propriétés médicinales.

La médecine traditionnelle a utilisé les graines de *Plantago ovata* et leurs cosses [45]. Les graines sont d'une importance particulière car elles produisent une couche de mucilage semblable à un gel lors du mouillage, qui a de nombreuses applications alimentaires et médicinales assez connues [48].

Plus récemment, le mucilage des graines de *Plantago* a acquis une grande importance industrielle et médicale. Le mucilage des graines broyées contient de l'hétéroxylone hautement hydrophile [48] et des polysaccharides de pectine, qui sont utilisés dans la technologie alimentaire pour imiter la texture des graisses, et dans les applications de santé comme supplément de fibres alimentaires pour aider à la laxation, traiter l'hypercholestérolémie [48], le diabète et le syndrome du côlon irritable.

Bien que les avantages cliniques de l'enveloppe de *plantago* ne fassent aucun doute, des études précliniques et in vitro ont montré la suppression des radicaux libres, l'immuno modulation et le traitement des troubles métaboliques par des extraits de graines de *Plantago* entières et non décortiquées. Ceci démontre que les composants des graines sans enveloppe peuvent aussi être bénéfiques.

Conclusion

Cette section a couvert les revues bibliographiques des plantes naturelles et les procédés d'extraction, en préparant le terrain pour le prochain chapitre qui portera sur les équations d'état, les règles de mélange et la méthode de conception moléculaire. Ces connaissances et méthodes seront essentielles pour notre étude afin de prédire et d'analyser les propriétés thermodynamiques des composés présents dans les plantes naturelles étudiées.

CHAPITRE II :

***MODÉLISATION THERMODYNAMIQUE DES ÉQUILIBRES
SOLIDE – CO₂ SUPERCRITIQUE ET DESCRIPTION DE LA
METHODE DE CONCEPTION DE NOUVEAUX FLUIDES
SUPERCRITIQUES***

2.1 Introduction

La technologie à fluides supercritique a pris un essor très important dans le développement de nouveaux procédés concernant un grand nombre de secteurs industriels, tels que pharmaceutiques, parapharmaceutiques, cosmétiques, agro-alimentaires, traitement des eaux, etc., et ce de par leur nature qui en fait des procédés verts. Cependant la performance de tout procédé à fluide supercritique dépend en grande partie des propriétés du fluide utilisé.

En effet actuellement le dioxyde de carbone est le fluide le plus utilisé dans les procédés à fluides supercritiques tels que l'extraction qui est l'objet du présent travail. Son choix pour cette opération est surtout guidé par certains facteurs, principalement son abondance car il est naturellement présent dans l'atmosphère, son coût relativement bas, il n'est pas toxique, non-inflammable, a des propriétés critiques pas très élevées, etc. Cependant toujours concernant l'extraction à fluide supercritique, il présente certains inconvénients dus surtout au fait qu'il est apolaire et donc n'a pas une assez bonne affinité pour les composés polaires. Par conséquent il est impératif de développer de nouveaux substituts au CO₂ tout en préservant le caractère vert de ces procédés, assurant une performance égale ou meilleure avec des propriétés physiques encore plus intéressantes telles que les propriétés critiques pour cibler les composés thermosensibles (thermolabiles), apportant des solutions au problème de polarité pour éviter l'ajout d'un constituant polaire tel qu'un solvant organique qui peut être néfaste.

La première propriété qui conditionnera le choix du fluide supercritique à utiliser dans un procédé d'extraction à fluide supercritique est surtout la solubilité du soluté à extraire dans ce fluide supercritique. Par conséquent ce chapitre impliquera le calcul de cette solubilité qui est le paramètre clé, dans des conditions de hautes pressions et fera donc appel à l'utilisation d'une équation d'état couplée à une règle de mélanges bien choisie et dont tous les aspects thermodynamiques seront décrits ci-dessus.

2.2 Conception moléculaire de nouveaux fluides supercritiques

2.2.1 Description de la méthode de conception

La méthode proposée pour la conception de nouveaux fluides pour une utilisation dans un procédé d'extraction à fluide supercritique, reposera essentiellement sur la

construction systématique de la molécule du fluide visé, au moyen de parties élémentaires, connues comme étant des groupements fonctionnels. Ceci est un grand avantage de par le fait que les propriétés du fluide candidat généré peuvent être facilement calculées vue la disponibilité dans la littérature de méthodes basées sur le concept de contribution de groupes qui sont assez fiables et simples à utiliser.

La méthode proposée dans le présent travail s’inspire de la stratégie rapportée dans certains travaux de la littérature concernées par la conception de nouveaux substitués mais pour des applications différentes tels que des solvants pour l’extraction liquide-liquide ou des réfrigérants/absorbants pour des machines frigorifiques opérant en cycle d’absorption [49- 51].

Les principales étapes de la méthode de conception moléculaire des fluides supercritiques utilisés dans le procédé d’extraction sont les suivantes :

- Sélection d’un ensemble de groupements fonctionnels, à priori les plus courants tels que les groupes hydrocarbonés (C, CH, CH₂, CH₃), le fluor (F), l’azote (N) et l’oxygène (O). Cependant d’autres groupes peuvent aussi être considérés selon la nature des systèmes considérés par le procédé d’extraction.
- Génération de structure moléculaire du fluide candidat à partir des groupes retenus et qui sont classés selon le nombre de liaisons libres des groupes. Ceux (les squelettes) ayant plus d’une liaison libre (LL) formeront le squelette moléculaire du fluide candidat avec des branches qui permettront de fixer les groupes à une seule liaison libre (termineurs). Un exemple considérant les groupements fonctionnels (CCH), (CH₃) et (F) est montré par la figure suivante :

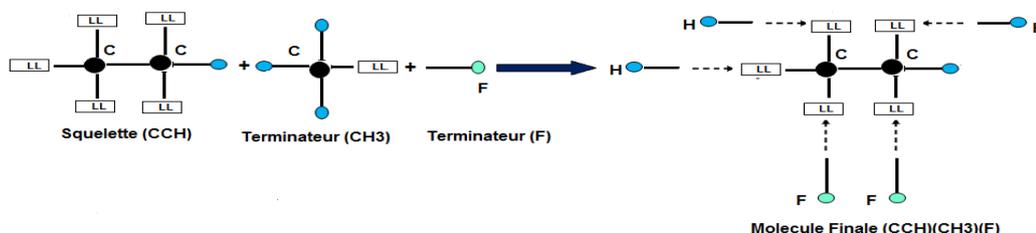


Figure 2.1: Exemple de génération d’une structure moléculaire du fluide candidat à partir de groupes choisis.

Dans tous les cas il est nécessaire de s'assurer que l'assemblage des différents groupements fonctionnels est conforme aux lois et règles chimiques, assurant une viabilité et une stabilité intramoléculaire à la structure générée;

- Calcul des propriétés thermophysiques des composés générés, telles que les propriétés critiques (pression, température et volume), le facteur acentrique, la pression et le volume à saturation, la température d'ébullition, etc., en utilisant les différentes méthodes qui seront décrites ci-dessous.
- Evaluation des structures générées selon le ou les critères de performance assignés et directement liés aux objectifs visés. Pour le présent travail concernant l'extraction à fluide supercritique à partir de plantes naturelles, deux critères sont considérés : le premier lié au soluté et concerne sa solubilité dans le fluide supercritique et le deuxième par rapport au fluide supercritique et est lié aux valeurs de certaines propriétés physiques, particulièrement les propriétés critiques.

2.2.2 Objectifs de la conception moléculaire de fluides supercritiques

Comme souligné précédemment, le dioxyde de carbone est le fluide le plus utilisé comme solvant à l'état supercritique dans un procédé d'extraction à fluide supercritique, de par certaines propriétés assez favorables. Cependant il a aussi certains inconvénients tels que son caractère apolaire, d'où un premier objectif d'avoir une méthode pour la conception et la génération systématique de nouveaux fluides comme substitués au CO₂, apportant des solutions.

Dans le présent travail, les plantes sélectionnées ont été soumises à des extractions à CO₂ supercritique par le biais d'un travail expérimental. L'intérêt des extraits obtenus est surtout par rapport à certaines activités biologiques telles que antioxydantes, antibactériennes, etc. et qui dépendent en grande partie de la composition de l'huile extraite, particulièrement par rapport à un ou plusieurs composés majeurs. Par conséquent un deuxième objectif consistera d'abord à optimiser les conditions opératoires pour améliorer les solubilités dans le CO₂ des composés majeurs. En deuxième lieu il s'agit d'examiner la génération moléculaire de fluides candidats où la solubilité du soluté est beaucoup plus importante que dans le CO₂ supercritique. Par conséquent il est clair que le facteur clé sur

lequel est basée la méthode de conception de fluides supercritiques est la solubilité dont la méthode de calcul est décrite juste dans la section suivante.

2.3 Calcul de la solubilité d'huile dans un fluide supercritique

2.3.1 Condition d'équilibre

Lorsque l'équilibre entre un mélange solide-fluide est atteint, la condition générale de l'équilibre est la suivante [52,53] (on suppose que la phase solide est pure et libre de solvant) :

$$f_i^{(S)} = f_i^{(F)} \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (\text{Eq.2.1})$$

- $f_i^{(F)}$ la fugacité du soluté i dans la phase fluide.
- $f_i^{(S)}$ la fugacité du soluté pur i aux mêmes conditions de température et de pression dans la phase solide.

En explicitant chaque membre de l'équation 2.1, on obtient :

$$P_i^{Sat}(T) \varphi_i^{Sat} \exp \left[\int_{P_i^{Sat}}^P \frac{v_i^{Sat}}{RT} dP \right] = y_i \varphi_i^F P \quad (\text{Eq.2.1a})$$

Comme la phase solide est pure, la fugacité du soluté i est donnée par [54,55,56]:

$$f_i^{(S)} = P_i^{Sat}(T) \varphi_i^{Sat} \exp \left[\int_{P_i^{Sat}}^P \frac{v_i^{Sat}}{RT} dP \right] \quad (\text{Eq.2.1b})$$

Avec φ_i^{Sat} est le coefficient de fugacité du soluté i à saturation, P_i^{Sat} la pression de saturation du soluté solide à température donnée i [bar] et v_i^{Sat} le volume molaire à saturation du soluté solide i [cm³/mol]

2.3.2 Calcul de la solubilité du solide dans un fluide supercritique

La fugacité du soluté dans la phase solide est donnée comme suit [53] :

$$f_i^{(S)} = y_i \varphi_i^F P \quad (\text{Eq.2.2})$$

Avec φ_i^F le coefficient de fugacité du soluté i dans le fluide supercritique et y_i la solubilité du soluté dans le fluide supercritique.

Substituant $f_i^{(S)}$ dans l'équation (2.2) donne la solubilité y_i du soluté i dans la phase fluide

$$\text{comme suit : } y_i = \frac{P_i^{Sat}(T) \varphi_i^{Sat} \exp \left[\int_{P_i^{Sat}}^P \frac{v_i^{Sat}}{RT} dP \right]}{\varphi_i^F P} \quad (\text{Eq.2.3})$$

En supposant que le volume molaire du solide est indépendant de la pression et que le coefficient de fugacité du solide pur à saturation est égal à l'unité, l'équation donnant la solubilité devient [57]:

$$y_i = \frac{P_i^{Sat}(T)}{\varphi_i^F P} \exp \left[\frac{v_i^S (P - P_i^{Sat}(T))}{RT} \right] \quad (\text{Eq.2.4})$$

Le coefficient de fugacité φ_i^F est calculé par le biais d'une équation d'état et une règle de mélange appropriée.

Par conséquent la section suivante présente les équations d'état, particulièrement les équations d'état cubiques ainsi que certaines règles de mélange parmi les plus utilisées.

2.3.2a Le coefficient de fugacité

Le coefficient de fugacité φ_i^F dans le fluide à l'état supercritique est calculé selon la relation suivante [58]:

$$\ln \varphi_i^F = \frac{1}{RT} \int_V^\infty \left[\left(\frac{\partial P}{\partial n_i} \right)_{T, V, n_j} - \left(\frac{RT}{V} \right)_T \right] dV - \ln Z \quad (\text{Eq.2.5})$$

Avec n_i le nombre de moles du constituant i, P la pression, T la température, V le volume molaire du fluide à l'état supercritique, Z le facteur de compressibilité qui est exprimé comme suit : $Z = \frac{PV}{RT}$ (Eq.2.6)

Z est déterminé par le biais d'une équation d'état cubique et passe par la résolution numérique d'une équation cubique en Z, comme sera montré ci-dessous.

A priori une description et discussion des équations d'état en général, sont données dans la section suivante.

2.4 Les équations d'état

Historiquement, van der Waals fût le premier à introduire une équation d'état pour le calcul des équilibres vapeur-liquide [59], sous forme d'une expression mathématique reliant des paramètres opératoires tels que la température, la pression, le volume et la

composition d'un système. L'objectif est d'aboutir à une description des propriétés thermodynamiques caractérisant les systèmes considérés afin de pouvoir prédire certains comportements, particulièrement en ce qui concerne les équilibres de phases.

L'extension des équations d'états aux autres équilibres de phases, tels que liquide-liquide et solide-liquide a surtout été encouragée par la disponibilité de machines de calcul assez performantes, permettant le développement de modèles mathématiques en fonction des mêmes paramètres clés initiaux cités ci-dessus: la pression, la température, le volume et la composition. Justement ces modèles sont connus comme étant des équations d'état, en continuité de l'initiative de van der Waals.

Différentes équations d'état sont rapportées et décrites en détail dans la littérature, d'où le problème du choix de la plus appropriée pour un système donné. Cependant un travail a été réalisé pour catégoriser les équations d'état selon différents domaines d'applications, intervalles des paramètres opératoires, surtout la pression et la température, nature des systèmes considérés. Généralement les quatre grandes classes adoptées sont les suivantes:

- Les équations d'état du Viriel, applicables pour des pressions pas trop élevées, de l'ordre de quelques bars. Leur avantage réside surtout dans la simplicité de leur manipulation mathématique;
- Les équations d'état dites cubiques et qui sont les plus utilisées car elles ont montré une certaine fiabilité dans la détermination des équilibres de phases, avec un avantage certain de prendre en charge les systèmes, indépendamment de leur polarité, dans des intervalles de température et de pression relativement importants. Cependant leur manipulation mathématique est plus complexe comparativement à l'équation d'état du Viriel;
- Les équations d'état basées sur un empirisme où certains de leurs paramètres sont obtenus empiriquement et sont liés aux constituants présents dans le système ainsi qu'aux paramètres opératoires, surtout de température et de pression;
- Les équations d'état ayant un aspect théorique, car développées à partir de la thermodynamique statistique et utilisant un nombre restreint de paramètres. Cependant leur inconvénient est surtout leur manipulation mathématique assez complexe.

Le présent travail fait intervenir des fluides à l'état supercritique caractérisé par de hautes pressions, d'où la nécessité de les prendre en charge par les équations d'état. Le choix s'est porté sur les équations d'état cubiques, adoptées pour les avantages mentionnés ci-dessus et aussi la manipulation mathématique pas très complexe. Il a été surtout focalisé sur les équations d'état cubiques les plus connues et utilisées et qui sont celles de van der Waals (VDW), Redlich-Kwong (RK), Soave (RKS) et Peng-Robinson (PR) [52]. Cette dernière est la plus utilisée de par sa manipulation mathématique assez simple et sa fiabilité, ne nécessitant que les propriétés critiques et le facteur acentrique, tous pouvant être obtenus par le biais des méthodes de contribution de groupes. Ceci explique et justifie son choix par le très grand nombre de travaux l'ayant utilisée et où elle a donné de très bons résultats [60]. Cependant à priori une description générale des équations d'état cubiques suivie par celle détaillée de PR, sont données dans la section suivante

Généralement la majorité des procédés fait intervenir des mélanges et pas seulement des corps purs, d'où la nécessité d'avoir extrapolé l'utilisation des équations d'état aux systèmes de plus d'un constituant, par le biais de règles dites de mélange dont l'objectif est de prendre en considération l'interaction entre les différentes espèces moléculaires présentes. Similairement aux équations d'état une multitude de règles de mélange ont aussi été rapportées dans la littérature. Ceci, comme mentionné, auparavant soulève le problème du choix de la combinaison équation d'état-règle de mélanges la plus adéquate. Dans ce travail seules les règles de mélange les plus courantes seront bien détaillées, en ciblant parmi les plus simple pour être utilisée dans le présent travail

2.4.1 Les équations d'état cubiques

Initialement la première forme d'équation d'état, la plus classique, fût introduite par van der Waals pour le cas d'un constituant pur, comme suit [52]:

$$P = \frac{RT}{V - b_i} - \frac{a_i}{V^2} \quad (\text{Eq.2.7})$$

Avec : a_i et b_i , deux paramètres spécifiques au constituant considéré et qui sont liés aux forces intermoléculaires attractives et répulsives, respectivement. Le terme b_i est appelé covolume et reflète en quelque sorte une correction apportée au volume due justement aux forces

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

intermoléculaires. Les deux paramètres sont donnés en fonction des propriétés critiques du constituant pur (T_c et n critique (P_c) par les expressions suivantes:

$$a_i = \frac{27}{64} \frac{R^2 T_c^2}{P_c} \quad (\text{Eq.2.7a})$$

$$b_i = \frac{1}{8} \frac{RT_c}{P_c} \quad (\text{Eq.2.7b})$$

Le développement de l'équation proposée par van der Waals donne un polynôme de troisième degré en V, d'où l'appellation 'd'équations cubiques' [58, 61].

Les quatre équations cubiques citées ci-dessus ont été regroupées par le biais de paramètres différenciant chaque équation, pour donner l'expression générale suivante :

$$P = \frac{RT}{V-b} \frac{a}{V^2 + uV + Wb^2} \quad (\text{Eq.2.8})$$

Avec T la température, P la pression, V le volume, les paramètres a et b caractérisent les forces intermoléculaires attractives et répulsives, respectivement, et dépendent des propriétés critiques et du facteur acentrique, u et w des paramètres pour différencier les différentes équations d'état.

Les relations permettant de calculer a et b pour des constituants purs et pour chaque type d'équation d'état sont montrées dans le suivant :

Tableau 2.1 : les paramètres a et b pour corps pur [58].

Equation	u	W	a	b
van der Waals (VDW)	0	0	$\frac{RT}{8P_c}$	$\frac{27R^2T_c^2}{28P_c}$
Redlich-Kwong (RK) [53]	1	0	$\frac{0.08644RT_c}{P_c}$	$\frac{0.42748R^2T_c^{2.5}}{P_c T^{1/2}}$
Soave (RKS) [53]	1	0	$\frac{0.08644RT_c}{P_c}$	$\frac{0.42748R^2T_c^2}{P_c} (1 + f_\omega (1 - T_r^{1/2}))^2$ $f_\omega = 0.48 + 1.574\omega - 0.176\omega^2$
Peng Robinson (PR)	2	-1	$\frac{0.0788RT_c}{P_c}$	$\frac{0.45724R^2T_c^2}{P_c} (1 + f_\omega (1 - T_r^{1/2}))^2$ $f_\omega = 0.37464 + 1.542274\omega - 0.2699\omega^2$

2.4.1a L'équation de Peng-Robinson

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

Pour les raisons décrites ci-dessus, l'équation utilisée dans ce travail est celle de Peng-Robinson, version 1976 [60]. Explicitement pour un corps pur et d'après le tableau ci-dessus, cette équation est caractérisée par des valeurs des paramètres u et w de 2 et -1, respectivement. En remplaçant dans l'équation (2.8), donne [62] :

$$P = \frac{RT}{v-b_i} - \frac{a_i(T)}{v(v+b_i)+b_i(v-b_i)} \quad (\text{Eq.2.9})$$

$$a_i(T) = 0,457235529 \frac{R^2 T_{c,i}^2}{P_{c,i}} \left[1 + f_{\omega} \times \left(1 - \sqrt{\frac{T}{T_{c,i}}} \right) \right]^2 \quad (\text{Eq.2.9a})$$

$$b_i = 0,0777960739 \frac{RT_{c,i}}{P_{c,i}} \quad (\text{Eq.2.9b})$$

Avec R la constante des gaz parfait = 8.314 J/mol K, P la pression [bar], T la température [K] et v le volume molaire [cm³/mol], T_{c,i}, P_{c,i}, et ω sont respectivement la température critique [K], la pression critique [bar] et le facteur acentrique du constituant i.

Utilisant l'équation (2.6) et en manipulant l'équation 2.9, donne la forme équivalente suivante :

$$Z^3 - (1 - B)Z^2 + (A - 2B - 3B^2)Z - (AB - B^2 - B^3) = 0 \quad (\text{Eq.2.10})$$

$$\text{Avec : } A = \frac{a_m P}{R^2 T^2} \quad (\text{Eq.2.10a})$$

$$B = \frac{b_m P}{RT} \quad (\text{Eq.2.10b})$$

Il faut noter que la version finale de l'équation de Peng-Robinson fût introduite en 1978 avec une modification due au fait que quand le paramètre f_{ω} est exprimé en fonction du facteur acentrique, il ne donne pas des valeurs précises dans les cas où les constituants sont légers. Cette modification consiste en une condition supplémentaire par rapport au facteur acentrique, comme suit:

$$\text{Si } \omega_i \leq 0,491 \quad f_{\omega} = 0,37464 + 1,54226 \omega_i - 0,26992 \omega_i^2 \quad (\text{Eq.2.10c})$$

$$\text{Si } \omega_i > 0,491 \quad f_{\omega} = 0,379642 + 1,48503 \omega_i - 0,164423 \omega_i^2 + 0,016666 \omega_i^3 \quad (\text{Eq.2.10d})$$

Les deux versions de l'équation de Peng-Robinson sont dénotées PR76 et PR78 [60, 64], par rapport aux dates de leur développement qui sont 1976 et 1978, respectivement.

- Expression du coefficient de fugacité φ_i^F dans le cas de mélanges:

En combinant les équations (2.9, 2.9a, 2.9b) et (2.10) on obtient l'expression suivante pour le calcul du coefficient ϕ_i^F :

$$\ln \phi_i^F = \frac{b_i}{b_m} (Z - 1) - \ln(Z - B) - \frac{A}{2\sqrt{2}B} \left(\frac{2\sum_j y_j a_{ij}}{a_m} - \frac{b_i}{b_m} \right) \ln \left(\frac{Z + (1 + \sqrt{2})B}{Z - (1 - \sqrt{2})B} \right) \quad (\text{Eq.2.11})$$

Avec : A et B sont définis comme suit :

$$A = \frac{a_m P}{R^2 T^2} \quad (\text{Eq.2.11a})$$

$$B = \frac{b_m P}{R T} \quad (\text{Eq.2.11b})$$

Z est le facteur de compressibilité obtenu par la résolution de l'équation cubique (Équation 2.10).

2.4.1b Règles de mélange

La majorité des systèmes renferment plus d'un constituant et sont plutôt des mélanges, d'où la nécessité d'utiliser des règles, justement appelées 'Règles de mélange'. Ces dernières gèrent l'extension des équations d'état pour un corps pur aux cas de plusieurs constituants, en calculant les paramètres a_m et b_m nécessaires, à partir de a_i et b_i montrés dans le tableau (2.1) et d'une manière pondérée par rapport aux fractions molaires des constituants, pour donner l'expression suivante:

$$P = \frac{RT}{V - b_m} + \frac{a_m}{V(V + b_m) + b_m(V - b_m)} \quad (\text{Eq.2.12})$$

Avec : a_m et b_m les paramètres attractives et répulsives du mélange, respectivement.

Il faut aussi noter qu'une grande variété de règles de mélange sont proposées dans la littérature, d'où le même problème rencontré pour les équations d'état concernant le choix de la règle la plus adéquate, associée à l'équation d'état considérée. Donc l'objectif est aussi d'avoir la combinaison Equation d'état-Règle de mélange, la plus performante, ce qui peut être assez difficile [65]. Cependant dans le présent travail, la règle de mélange utilisée est celle de van der Waals. Ce choix est aussi justifié par la grande fréquence d'utilisation dans la littérature de la combinaison Peng-Robinson- van der Waals.

Les paramètres a_m et b_m , de l'équation ci-dessus sont donc exprimés comme suit :

$$a_m = \sum_i \sum_j y_i y_j a_{ij} \quad (\text{Eq.2.12a})$$

$$b_m = \sum_i \sum_j y_i y_j b_{ij} \quad (\text{Eq.2.12b})$$

$$a_{ij} = (a_i \times a_j)^{\frac{1}{2}} (1 - k_{ij}) \quad (\text{Eq.2.12c})$$

$$b_{ij} = \frac{b_i + b_j}{2} \quad (\text{Eq.2.12.d})$$

Avec a_i et b_j comme définis dans le tableau (2.1), y_i et y_j les fractions molaires des constituants i et j , respectivement et k_{ij} est le paramètre d'interaction binaire.

2.4.2 Paramètre d'interaction binaire k_{ij}

Le paramètre d'interaction k_{ij} a une grande influence dans le calcul des différents paramètres de mélange ainsi que sur les résultats. Il exprime les forces intermoléculaires des constituants i et j du mélange et est généralement déterminé expérimentalement. Cependant il n'est pas toujours disponible et la mesure de données d'équilibre de phase, surtout à hautes pressions n'est pas toujours facile d'où la nécessité d'avoir des méthodes théoriques pour la détermination de ce paramètre d'interaction. Il faut noter que $k_{ij} = k_{ji}$ et $k_{ii} = k_{jj} = 0$.

Principalement, deux approches de calcul du coefficient d'interaction k_{ij} peuvent être adoptées et sont décrites comme suit:

- 1- La première consiste à formuler une fonction objective à partir de données expérimentales disponibles dans la littérature, et procéder à sa minimisation, utilisant des méthodes d'optimisation assez fiables comme celle basée sur la méthode Simplexe [66]. Une telle fonction objectif est généralement exprimée comme suit :

$$F = \sum_1^N (y_{exp} - y_{calc})^2 \quad (\text{Eq.2.13})$$

Avec y_{exp} et y_{calc} les solubilités expérimentales et calculées exprimées en fonction du k_{ij} sujet à des ajustements.

L'avantage de cette approche est d'avoir un paramètre d'interaction indépendant de la température et directement lié aux données expérimentales utilisées pour le système considéré. Cependant l'inconvénient réside au niveau de la convergence de la minimisation de la fonction objectif, dû au fait que la fonction converge vers des

minimas locaux et se retrouve ainsi coincée d'où l'effet négatif sur la qualité des résultats. Toutefois ce problème pourrait être résolu avec le développement constant des méthodes d'optimisation surtout avec la disponibilité actuellement de moyens de calcul de plus en plus puissants.

- 2- Méthodes de contribution de groupes : cette deuxième approche est totalement basée sur le concept de contribution de groupes pour la détermination du paramètre d'interaction binaire k_{ij} en fonction de la température et proposée par [67]. Pour l'équation d'état de Peng-Robinson, k_{ij} est exprimée comme suit :

$$k_{ij}(T) = \frac{-\frac{1}{2} \sum_{k=1}^{N_g} \sum_{l=1}^{N_g} (\alpha_{ik} - \alpha_{jk})(\alpha_{il} - \alpha_{jl}) A_{kl} \left(\frac{298.15}{T} \right)^{\left(\frac{B_{kl}}{A_{kl}} - 1 \right)} - \left(\frac{\sqrt{a_i(T)}}{b_i} - \frac{\sqrt{a_j(T)}}{b_j} \right)^2}{2 \sqrt{\frac{a_i(T) a_j(T)}{b_i b_j}}} \quad (\text{Eq.2.14})$$

Avec T est la température, a_i et b_i calculés par les équations (2.9a & b) et N_g est le nombre de groupes définis par la méthode, k et l sont deux groupes différents. α_{ik} représente la fraction de molécule i occupée par le groupe k, A_{kl} et B_{kl} représentent les paramètres d'interaction de groupes ou encore paramètres de contribution de groupes et ajustés sur les données expérimentales d'équilibre liquide vapeur de la littérature.

Il faut noter que $A_{kl} = A_{lk}$ et $B_{kl} = B_{lk}$ et d'autre part $A_{kk} = A_{ll} = B_{kk} = B_{ll} = 0$.

L'avantage de cette approche est le fait que la température est explicitement impliquée dans le calcul de k_{ij} . Cependant son désavantage principal est le fait que le nombre de groupes pour lesquels les paramètres d'interaction ont été déterminés, est assez restreint, juste une douzaine selon la littérature [67] et comme montré dans le tableau 2.2, ce qui est un facteur limitatif quant à l'utilisation de cette méthode, mais aussi incitatif quant au calcul de nouveaux paramètres d'interaction A_{kl} et B_{kl} , afin d'étoffer la matrice correspondante.

Finalement cette méthode peut être utilisée selon la disponibilité des paramètres d'interaction de par le fait qu'elle est basée sur le concept de contribution de groupes et donc elle carrément compatible avec la méthode de conception de fluides supercritiques à base de groupements fonctionnels. Par conséquent une perspective intéressante est d'étoffer la matrice des paramètres d'interaction A_{kl} et B_{kl} . Cette équation a aussi en quelque sorte introduit un aspect prédictif dans l'équation d'état de Peng-Robinson, d'où la dénotation PPR 78 [68] qui nécessite seulement la connaissance de propriétés critiques et le facteur

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

acentrique qui à leur tour sont aussi calculables par le biais de méthodes de contribution de groupes et donc sont compatibles avec la méthode de conception de fluides supercritiques proposée.

Tableau 2.2: Paramètres d'interaction pour le calcul de k_{ij} pour l'équation de Peng-Robinson [68].

a- Paramètres du groupe matriciel A_{kl} utilisé

A(k,l)	CH ₃	CH ₂	CH	C	CH ₄	C ₂ H ₆	CH _{aro}	C _{aro}	C _{fused aro}	CH _{2,cyc}	CH _{CYC}	CO ₂
CH ₃	0	74.81	261.5	396.7	32.94	8.579	90.25	62.8	62.8	40.38	98.48	164.0
CH ₂	74.81	0	51.47	88.53	36.72	31.23	29.78	3.775	3.775	12.78	-54.9	136.9
CH	261.5	51.47	0	-305.7	145.2	174.3	103.3	6.177	6.177	101.9	-226.5	184.3
C	396.7	88.53	-305.7	0	263.9	333.2	158.9	79.61	79.61	177.1	17.84	287.9
CH ₄	32.94	36.72	145.2	263.9	0	13.080	67.260	139.3	139.3	36.37	40.150	137.3
C ₂ H ₆	8.579	31.23	174.3	333.2	13.080	0	41.180	-3.088	-3.088	8.579	10.290	135.5
CH _{aro}	90.25	29.78	103.3	158.9	67.260	41.180	0	-13.38	-13.38	29.17	-26.42	102.60
C _{aro}	62.8	3.775	6.177	79.61	139.3	-3.088	-13.38	0	0	34.31	-105.7	110.1
C _{fused aro}	62.8	3.775	6.177	79.61	139.3	-3.088	-13.38	0	0	34.31	-105.7	267.3
CH _{2,cyc}	40.38	12.78	101.9	177.1	36.37	8.579	29.170	34.31	34.31	0	-50.10	130.1
CH _{CYC}	98.48	-54.9	-226.5	17.84	40.150	10.290	-26.42	-105.7	-105.7	-50.10	0	91.28
CO ₂	164.0	136.9	184.3	287.9	137.3	135.5	102.60	110.1	267.3	130.10	91.28	0

b- Paramètres du groupe matriciel B_{kl} utilisé

B(k,l)	CH ₃	CH ₂	CH	C	CH ₄	C ₂ H ₆	CH _{aro}	C _{aro}	C _{fused aro}	CH _{2,cyc}	CH _{CYC}	CO ₂
CH ₃	0	165.7	388.8	804.3	-35.0	-29.51	146.1	41.86	41.86	95.90	231.6	269.0
CH ₂	165.7	0	79.61	315.0	108.4	84.76	58.17	144.8	144.8	28.37	-319.5	254.6
CH	388.8	79.61	0	-250.8	301.6	352.1	191.8	-33.97	-33.97	-90.93	-51.47	762.1
C	804.3	315.0	-250.8	0	531.5	203.8	613.2	-326.0	-326.0	601.9	-109.5	346.2
CH ₄	-35.0	108.4	301.6	531.5	0	6.863	167.5	464.3	464.3	26.42	255.3	194.2
C ₂ H ₆	-29.51	84.76	352.1	203.8	6.863	0	50.79	13.04	13.04	76.86	-52.84	239.5
CH _{aro}	146.1	58.17	191.8	613.2	167.5	50.79	0	20.25	20.25	69.32	-789.2	161.3
C _{aro}	41.86	144.8	-33.97	-326.0	464.3	13.04	20.25	0	0	95.39	-286.5	637.6
C _{fused aro}	41.86	144.8	-33.97	-326.0	464.3	13.04	20.25	0	0	95.39	-286.5	444.4
CH _{2,cyc}	95.90	28.37	-90.93	601.9	26.42	76.86	69.32	95.39	95.39	0	-891.1	225.8
CH _{CYC}	231.6	-319.5	-51.47	-109.5	255.3	-52.84	-789.2	-286.5	-286.5	-891.1	0	82.01
CO ₂	269.0	254.6	762.1	346.2	194.2	239.5	161.3	637.6	444.4	225.8	82.01	0

2.4.3 Prédiction des propriétés critiques et du facteur acentrique par des méthodes de contributions de groupes

Avant d'exposer les différentes méthodes de calcul sélectionnées pour effectuer cette étude, il a été jugé utile de donner un aperçu sur la notion de classification des groupes, dans le cadre du concept de contribution de groupes.

2.4.3a Classification des groupes

Les méthodes de contribution de groupes permettent l'évaluation d'une quelconque propriété en additionnant des contributions relatives à des fragments de molécules. Les

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

travaux de Benson et Buss (1958) [69] ont montré qu'il était possible d'établir un classement des groupes dans le cadre des lois d'additivité.

a. Additivité atomique : Groupe d'ordre 0

La décomposition d'une molécule en groupes d'ordre 0 consiste à prendre en compte chacun des atomes présents dans cette molécule. Donc, chaque atome représente un groupe et toute propriété recherchée est dans ce cas considérée comme étant une somme de contributions atomiques.

b. Additivité des liaisons entre atomes : Groupe d'ordre 1

Dans ce cas de figure, notre molécule est décomposée en différents groupes élémentaires qui ne dépendent en aucun cas de leur environnement. Chacun de ces groupes, garde la même valeur de sa contribution quelque soit le groupe ou l'atome dont il est lié (par exemple, si le groupe -CH₃ est lié au groupe -CH₂-, sa contribution est la même que si ce groupe est lié au groupe -Cl).

c. Additivité des groupements fonctionnels : Groupe d'ordre 2

Un groupe du deuxième ordre, est formé d'un atome central de valence supérieure à un (1), et de l'ensemble des liaisons qu'il forme avec ses voisins. Ainsi, un groupe peut être sous la forme suivante : X-(A)_i(B)_j(C)_k(D)_l

Sachant que : X représente l'atome central auquel sont liés *i* atome(s) A, *j* atome(s) B, *k* atome(s) C et *l* atome(s) D.

Dans le tableau suivant (Tableau 2.3) essayons d'illustrer les méthodes de décompositions évoquées précédemment, en prenons la molécule de butane (C₄H₁₀) comme exemple,

Tableau2.3 : Décomposition de la molécule de butane.

Structure et formule chimique du butane	Décomposition	Groupe	Nombre de groupes
 C ₄ H ₁₀	Groupe d'ordre 0	C H	4 10
	Groupe d'ordre 1	-CH ₃ -CH ₂	2 2
	Groupe d'ordre 2	C-(C) (H) ₃	2
		C-(C) ₂ (H) ₂	2

L'intérêt de cette classification est de montrer l'importance du découpage d'une molécule en groupements fonctionnels, ce qui introduit une certaine hiérarchisation dans l'ensemble des groupes et met en évidence le caractère approximatif des méthodes de contributions de groupes dû à l'additivité. L'une des lacunes principales des méthodes de contribution de groupe est le fait qu'elles ne prennent pas en considération l'isomérisie. Cependant avec le développement des moyens de calcul et de logiciels appropriés ce problème a été atténué dans une large mesure donnant lieu à des méthodes prédictives très précises.

2.4.3b Calcul des propriétés critiques

Ci-dessous quelques corrélations ont été sélectionnées en raison de leur domaine d'application et/ou de leur précision.

a. Méthode de Lydersen (1955)

Lydersen [70] a proposé une méthode de contributions de groupes pour estimer la température critique (T_c), la pression critique (P_c) et le volume critique (V_c) de composés purs connaissant leur température d'ébullition, leur poids moléculaire et la structure chimique de la molécule, selon les relations suivantes:

$$T_c(\text{bar}) = T_b \times [0.567 + \sum n_i \Delta T - (\sum n_i \Delta_i)^2]^{-1} \quad (\text{Eq.2.15})$$

$$P_c(\text{K}) = M \times [0.33 + \sum n_i \Delta_i]^{-2} \quad (\text{Eq.2.16})$$

$$V_c(\text{cm}^3/\text{mol}) = 40 + \sum n_i \Delta_i \quad (\text{Eq.2.17})$$

Δ : Les contributions des groupes d'atomes.

L'écart moyen par rapport à l'expérimental est de l'ordre de 1 % mais peut atteindre 15 % dans le cas de molécules lourdes (masse molaire, M > 100).

b. Méthode Ambrose (1979, 1980b)

Les propriétés critiques sont calculées selon la méthode Ambrose comme suit [158,170]:

$$T_c = T_b \times \left[1 + (1.242 + (\sum n_i \Delta_i))^{-1} \right] \quad (\text{Eq.2.18})$$

$$P_c = M \times [0.339 + \sum n_i \Delta_i]^{-2} \quad (\text{Eq.2.19})$$

$$V_c = 40 + \sum n_i \Delta_i \quad (\text{Eq.2.20})$$

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

avec 1.242 est une constante de régression adimensionnelle, pour les composés perfluorés ou les fluorocarbures mono-halogénés. Elle prend la valeur de 1.570 pour T, et 1 pour P_c. Le point d'ébullition normal, T_b, est requis.

c. Méthode de Joback et al

Pour le calcul des propriétés critique (T_c , température critique [K], P_c , pression critique [bar], V_c , volume critique [cm³/mol]) Joback [58], [71] a proposé, après réévaluation de la méthode de Lydersen [70], les relations suivantes :

$$T_c = T_b \times [0.584 + 0.965 \sum \Delta T - (\sum \Delta T)^2]^{-1} \quad (\text{Eq.2.21})$$

La température d'ébullition, T_b peut être obtenue à partir de la contribution de Joback comme suit :

$$T_b = 198 + \sum \Delta_b \quad (\text{Eq.2.22})$$

$$P_c = [0.113 + 0.0032 \times n_A - \sum \Delta_P]^{-2} \quad (\text{Eq.2.23})$$

$$V_c = 17.5 + \sum \Delta_V \quad (\text{Eq.2.24})$$

ΔT , Δ_b , Δ_P et Δ_V représentent les contributions de groupes pour le calcul de T_c , T_b , P_c et V_c respectivement. n_A le nombre d'atomes dans la molécule.

d. Méthode de Fedors (1979, 1982)

L'auteur expliqua que la méthode est moins précise que celles d'Ambrose et de Joback mais elle présente l'avantage de ne pas exiger la température normale d'ébullition dans le calcul de la température critique [58], [72].

$$\text{Fedors (1982): } T_c = 535 \times \log_{10} \sum n_i \Delta_i \quad (\text{Eq.2.25})$$

$$\text{Fedors (1979): } V_c = 26.6 + \sum n_i \Delta_i \quad (\text{Eq.2.26})$$

e. Méthode de Constantinou et Gani

Dans la méthode proposée par Constantinou et Gani [73], pour l'estimation des propriétés, la structure moléculaire d'un composé inclut un ensemble de deux types de groupes : des groupes de premier ordre et des groupes de second ordre.

Les relations suivantes permettent l'estimation des propriétés T_c , P_c , V_c :

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

$$T_C = 181.128 \times \ln[\sum_k N_k(t_{C1k}) + \sum_j M_j(t_{C2k})] \quad (\text{Eq.2.27})$$

$$P_C = [\sum_k N_k(p_{C1k}) + \sum_j M_j(p_{C2k}) + 0.10022]^{-2} + 1.3705 \quad (\text{Eq.2.28})$$

$$V_C = -0.00435 + [\sum_k N_k(v_{C1k}) + \sum_j M_j(v_{C2k})] \quad (\text{Eq.2.29})$$

La température d'ébullition, T_b , peut être calculée selon l'expression suivante comme suit :

$$T_b = 204.359 \times \ln[\sum_k N_k(t_{b1k}) + \sum_j M_j(t_{b2k})] \quad (\text{Eq.2.30})$$

Sachant que N_k et M_j représentent respectivement le nombre de groupes de premier ordre de type k et de deuxième ordre de type j dans la molécule. t_{C1k} , t_{b1k} , p_{C1k} , v_{C1k} sont les contributions de groupes de premier ordre et t_{C2j} , t_{b2j} , p_{C2j} , v_{C2j} les contributions de groupes de deuxième ordre.

2.4.3c Volume molaire du liquide à saturation

Estimée par Rackett [58], et modifiée après par Spencer et Danner [62], l'équation du volume molaire à saturation est donnée comme suit :

$$V^S = \frac{RT_C}{P_C} \times Z_{RA}^{[1+(1-T_r)^{2/7}]} \quad (\text{Eq.2.31})$$

T_r : La température réduite elle est donnée par : $T_r = \frac{T}{T_C}$ et Z_{RA} est une constante unique pour chaque composé, exprimée comme suit :

$$Z_{RA} = 0.29056 - 0.08775 \times \omega \quad (\text{Eq.2.32})$$

Le facteur acentrique ω , est exprimé en fonction des propriétés critique T_C et P_C comme suite[58] :

$$\omega = \frac{-\ln P_C - 5.92714 + 6.09648\theta^{-1} + 1.28862 \ln \theta - 0.169347\theta^6}{15.2518 - 15.6875\theta^{-1} - 13.7421 \ln \theta + 0.43577\theta^6} \quad (\text{Eq.2.33})$$

P_C en atmosphère.

Avec : $\theta = \frac{T_b}{T_C}$ (T_b et T_C : Les températures d'ébullition et critique respectivement).

2.4.3d Calcul de la pression à saturation

Pour le calcul de la pression de vapeur à saturation, il existe plusieurs relations, dont les plus utilisées sont :

a. Méthode d'Ambrose –Walton

La méthode d'Ambrose – Walton [64] est une méthode basée sur le principe des états correspondants et elle nécessite pour son application l'utilisation de la température critique, la pression critique et le facteur acentrique de la méthode de Lee & Kesler [58].

Elle est exprimée comme suit :

$$\ln P_{ppvr} = f^{(0)} + \omega f^{(1)} + \omega^2 f^{(2)} \quad (\text{Eq.2.34})$$

Bien qu'un certain nombre d'expressions analytiques aient été suggérées pour $f^{(0)}$, $f^{(1)}$ et $f^{(2)}$, il est recommandé ce qui suit (développé par Ambrose et Walton (1989)) [74] :

$$f^{(0)} = \frac{-5.97616\tau + 1.29874\tau^{1.5} - 0.60394\tau^{2.5} - 1.06841\tau^5}{T_r} \quad (\text{Eq.2.34a})$$

$$f^{(1)} = \frac{-5.03365\tau + 1.11505\tau^{1.5} - 5.41127\tau^{2.5} - 7.46628\tau^5}{T_r} \quad (\text{Eq.2.34b})$$

$$f^{(2)} = \frac{-0.64771\tau + 2.41539\tau^{1.5} - 4.26979\tau^{2.5} + 3.25259\tau^5}{T_r} \quad (\text{Eq.2.34c})$$

D'où : $\tau = (1 - T_r)$. $f^{(2)}$ n'est importante que pour les fluides avec de grands facteurs acentriques et à basses températures réduites. En fait, il est nul à $T_r = 0,7$.

b. Méthode de Riedel (1954)

Riedel [73] a proposé une équation de pression de vapeur, basée sur le principe des états correspondants et exprimée comme suit:

$$\ln P_{vp} = A + \left(\frac{B}{T}\right) + C \ln T + DT^6 \quad (\text{Eq.2.35})$$

Le terme T_r^6 permet de décrire le point d'inflexion de la courbe de pression de vapeur dans la région des hautes pressions. Pour la détermination des constantes de l'équation 2.35, Reidel a défini le paramètre α comme suit:

$$\alpha = \frac{d \ln P_{vppr}}{d \ln T_r} \quad (\text{Eq.2.36})$$

A partir d'une étude de données de pression de vapeur expérimentales, Planck et Riedel (1948) ont montré que [74]:

Chapitre II :

Modélisation thermodynamique des équilibres solide – CO₂ supercritique et description de la méthode de conception de nouveaux fluides supercritiques

$$\frac{d\alpha}{dT_r} = 0 \text{ à } T_r = 1 \quad (\text{Eq.2.36a})$$

En utilisant l'équation 2.31 comme contrainte sur l'équation 5.35, Riedel a trouvé :

$$\ln P_{vpr} = A + -\left(\frac{B^+}{T_r}\right) + C + \ln T_r + D + T_r^6 \quad (\text{Eq.2.37})$$

$$Pvp = P_{vpr} \times Pc \quad (\text{Eq.2.37a})$$

$$\text{Avec : } A^+ = -35Q, B^+ = -36Q, C^+ = 42Q + \alpha_c, D^+ = -Q \quad (\text{Eq.2.37b})$$

$$\text{et } Q = K(3.758 - \alpha_c) \quad (\text{Eq.2.37c})$$

D'après Riedel $K = 0.0838$.

Puisqu'il difficile de déterminer α_c par son équation de définition au point critique, α_c est généralement estimée à partir des équations. (2.37) et (2.37b) en insérant $P = 1,01325$ bar à $T = T_b$ et en exprimant α_c . Les équations qui résultent de ce processus sont :

$$\alpha_c = \frac{3.758K\psi_b + \ln\left(\frac{P_c}{1.01325}\right)}{K\psi_b - \ln T_{br}} \quad (\text{Eq.2.37d})$$

$$\psi_b = -35 + \frac{36}{T_{br}} + 42 \ln T_{br} - T_{br}^6 \quad (\text{Eq.2.37e})$$

Conclusion

A ce stade tous les éléments nécessaires à une méthode de conception moléculaire à base du concept de contribution de groupes ont été décrits et discutés, allant du découpage d'une molécule en groupements fonctionnels et de la stratégie utilisée, du calcul de la solubilité d'un soluté dans un fluide supercritique à base d'équations d'état, des propriétés physiques requises telles que les propriétés critiques, le facteur acentrique, le volume et la pression à saturation, etc.

CHAPITRE III
ASPECTS THÉORIQUES SUR LES ACTIVITÉS
BIOLOGIQUES

3.1 Introduction

Malgré son ancienneté la phytochimie reste toujours d'actualité. Cela est dû principalement au fait que le règne végétal est d'une immense richesse en plantes aromatiques, médicinales ou tinctoriales, qui sont sources d'un nombre inestimable de variétés de substances naturelles bioactives, appelées métabolites secondaires. Pour des raisons économiques, un intérêt sans cesse croissant est accordé à l'étude biochimique de ces composés, contribuant au développement de secteurs entiers de la phytochimie ayant un rapport ou un lien avec de nombreuses sciences appliquées telles que la pharmacie, la chimie, la biologie et la médecine. Face à la diversité et au nombre des molécules de ces composés, la question du rôle de leur potentiel biologique s'est rapidement posée.

Avant de procéder à l'isolement de produits potentiellement bioactifs, une série de tests biologiques rapides, fiables et pertinents est indispensable, ce qui permet d'évaluer le potentiel des extraits végétaux. Toutefois, il faut bien noter que si ces derniers s'avèrent inactifs contre les cibles choisies, les substances actives sont présentes en très faible concentration ou peuvent posséder d'autres potentiels non estimés. Ceci justifie une partie des objectifs de ce présent travail, consistant en la recherche d'extraits végétaux pouvant engendrer des activités bioactives en réalisant des extractions à différentes conditions opératoires via des méthodes conventionnelles ou non conventionnelles, notamment par CO₂ supercritique. Le but de cette approche est de développer un modèle basé sur le concept de contributions de groupes permettant l'estimation de la solubilité des extraits obtenus dans des fluides supercritiques, à des conditions optimales.

Par conséquent, ce présent chapitre est dédié à la présentation de certains aspects théoriques liés aux activités biologiques engendrées par ces substances naturelles potentiellement bioactives, en examinant de plus près leur rôle et en expliquant leur diversité et leur importance écologique.

3.2 Rappel sur les métabolites secondaires des végétaux

A la différence des métabolites primaires (glucides, protéines, lipides, polysaccharides) qui sont nécessaires au développement, à la croissance et à la reproduction des plantes, les métabolites secondaires sont des substances biologiques produites par les organismes vivants afin d'assurer l'adaptation de la plante avec son environnement. Ils ne participent pas directement au fonctionnement cellulaire et au développement du végétal.

Il a été montré que les métabolites secondaires ont une variété d'effets biologiques, fournissant une base scientifique pour l'utilisation des herbes en médecine traditionnelle dans de nombreuses cultures anciennes. Ils ont des propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales et peuvent donc protéger les plantes contre les infections. Ils contiennent également, des produits chimiques essentiels absorbant les UV, empêchant les dommages importants causés aux feuilles par la lumière.[75]

Les métabolites végétaux secondaires sont répartis en plusieurs groupes en fonction de leurs structures chimiques, à savoir les composés phénoliques, les terpènes, les stéroïdes, les lipides, les carbohydrates et les composés azotés tels que les alcaloïdes [75],Figure (3.1). Chacune de ces classes contient une très grande variété de composés qui présentent une très large gamme d'activités biologiques [76],Tableau (3.1).

Tableau 3.1 : Propriétés de quelques constituants majeurs des plantes médicinales[77].

Composés	Utilisation	Activité pharmacologique
Alcaloïdes	Biosynthèse de produits pharmaceutiques	Anticancéreux, antimicrobien, anti-inflammatoire,
Saponines	Agent détergent, mouillant et émulsifiant	Anti appétant, antifongique, anti-obésité, antioxydant
Tannins	Utilisé pour les colorants cationiques, la production d'encre	Antimutagènes, anticarcinogènes, antimicrobiens,
Flavonoïdes	Prévient les infections microbiennes	Anti-inflammatoire, antimicrobien, antibactérien, antioxydant

Dans ces grandes familles, on distingue, en termes de nombre de structures connues, les composés phénoliques, les composés terpéniques et les composés azotés, plus particulièrement les alcaloïdes.

Durant ce travail, une attention plus particulière a été accordée à l'étude des composés phénoliques. Par conséquent, une présentation détaillée de cette famille de composés a été considérée dans la section suivante.

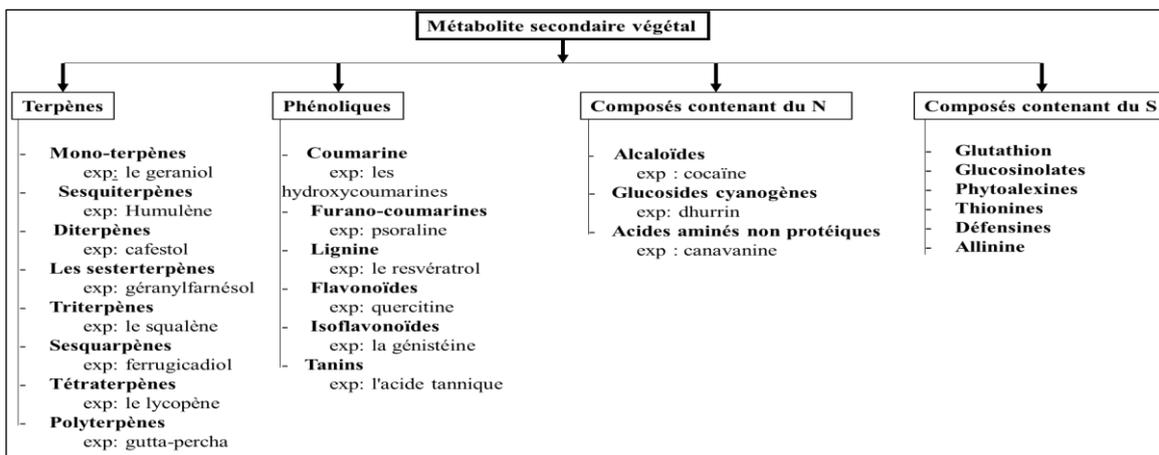


Figure 3.1 : Exemples de familles et sous-familles de métabolites secondaires [78].

3.2.1 Les composés phénoliques

A ce jour, des milliers de composés phénoliques ont été caractérisés dans le règne végétal. Leur point commun est la présence d'un ou plusieurs noyaux benzéniques (Structure de base) avec un ou plusieurs groupements fonctionnels hydroxyles. Les composés phénoliques peuvent être répartis en une dizaine de classes différentes Figure (3.2). Certains ont des structures chimiques plus simples telles que l'acide phénolique, le stilbène, et leurs dérivés pouvant être complexes, tels que les oligomères de stilbène, les gallotannins et les ellagitannins [79].

L'acide phénolique, le stilbène, les flavonoïdes, les tanins et les lignanes se trouvent principalement dans les feuilles, les fleurs et l'écorce. Ces molécules jouent des rôles importants dans la croissance des plantes et dans la lutte contre les pathogènes et les maladies infectieuses. Les couleurs des fruits, des fleurs et des feuilles sont parmi les caractéristiques de la sous-classe des flavonoïdes [79].

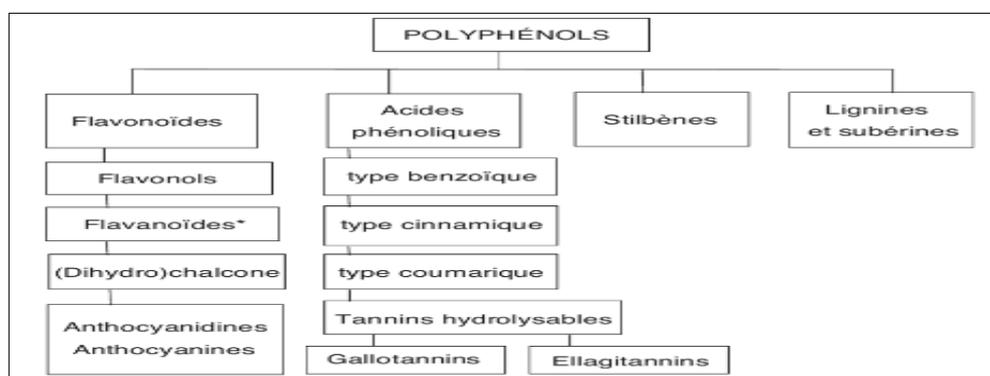


Figure 3.2 : Principales classes des composés phénoliques [80].

Tableau 3.2 : Principaux composés phénoliques et leurs propriétés.

Composés Phénoliques	Propriétés
Flavonoïdes	Appartiennent à une grande famille de polyphénols, molécules connues pour de diverses activités biologiques. Les flavonoïdes sont omniprésents dans les plantes. Presque tous les tissus végétaux peuvent les synthétiser[81]. Les flavonoïdes sont des composants indispensables dans une variété d'applications nutraceutiques, pharmaceutiques, médicinales et cosmétiques.
Phénols, Acides phénoliques [85]	Le terme acide phénolique s'applique à tous les composés organiques ayant au moins une fonction acide carboxylique et un groupe hydroxyle phénolique. En phytochimie, l'usage de ce nom est réservé aux seuls dérivés de l'acide benzoïque et de l'acide cinnamique
Acides coumariques ou Acide hydroxycinnamique [86]	L'acide coumarique est un dérivé hydroxy de l'acide cinnamique et se présente naturellement en trois isomères (ortho-, méta- et para-)
Stilbènes	Dérivé de l'acide hydroxycinnamique contenant de simples dérivés hydroxy et méthoxy du stilbène, ainsi que leurs formes hétérosidiques et polymères. On les trouve en petites quantités dans l'alimentation humaine.
Coumarines	Les coumarines sont une large famille de métabolites secondaires présents dans diverses espèces de plantes [87]. Les coumarines sont des dérivés de la benzo- α -pyrone, la lactone de l'acide O-hydroxycinnamique [75].
Lignine et subérine	La lignine est l'un des métabolites secondaires les plus importants produits par la voie métabolique phénylalanine/tyrosine dans les cellules végétales. La lignine est l'un des principaux constituants du bois. -polymère phénolique complexe[90]. Les lignines sont des polymères d'alcools p- coumarylique, coniférylique, sinapylique. Par contre, les subérines sont des polyesters des
	Ils Émettent des signaux visuels sous forme de pigments pour les animaux afin d'attirer les pollinisateurs vers les fleurs, et les animaux vers les fruits, aidant ainsi à la dispersion des graines[82], [83]. Ils ont des effets biochimiques et antioxydants, traitent le cancer, la maladie d'Alzheimer (MA), l'athérosclérose, anti-inflammatoires, antimutagènes[84].
	Antioxydants et anti-inflammatoires et ils peuvent avoir des propriétés antivirales.
	activité antimicrobienne et anticancéreuse
	Parmi ces composés se trouve le resvératrol, un médicament anticancéreux [79] présent dans certaines plantes. Ils ont des propriétés antioxydantes, antibactériennes et antifongiques et peuvent être trouvés dans une variété de produits pharmaceutiques et nutraceutiques [85].
	Ils peuvent empêcher la peroxydation des lipides membranaires et éliminer les radicaux libres. En tant qu'ingrédient alimentaire, ces antioxydants naturels semblent contribuer de manière significative à la prévention des maladies : cancer, maladie cardiaque, etc [88]. Ils ont les propriétés anti-inflammatoires, anticoagulantes, anticancéreuses et anti-Alzheimer [75], [89].
	Elle a de nombreuses fonctions biologiques telles que le transport de l'eau, le support mécanique et la résistance aux différents stress [90].

	acides féruliques et p-coumarique avec des acides aliphatiques[80].	
Anthocyanes (anthocyanosides) Où Anthocyanine	(sous-groupes des flavonoïdes) sont des pigments végétaux glycosides hydrosolubles omniprésents, évidents dans la coloration violette des fruits, des feuilles et des tiges. Ils comprennent une molécule d'anthocyanidine liée à un fragment sucre. Les anthocyanidines sont des composés flavonoïdes avec une structure moléculaire à trois anneaux [91]	Ils sont de puissants antioxydants[80], qui sont utilisés en phytomédecine et en nutraceutiques pour lutter contre les maladies causées par les espèces réactives de l'oxygène (ROS) [85]
Tanins	Toutes les plantes en contiennent à des degrés divers. Il existe deux types de tanins : les tanins hydrolysables et les tanins condensés (appelés aussi proanthocyanidines) [75].	Ils sont des donneurs de protons des radicaux libres des lipides qui se forment lors de la peroxydation. Ils ont la capacité de se lier et de précipiter les protéines[75].
Quinones	Les quinones sont une classe de composés naturels et synthétiques qui ont plusieurs effets bénéfiques. Les quinones, un type de métabolites secondaires d'origine végétale, sont une classe de composés à structure quinone et peuvent être principalement divisées en quatre types [93].	Les quinones sont des transporteurs d'électrons jouant un rôle dans la photosynthèse. En tant que vitamines, elles représentent une classe de molécules prévenant et traitant plusieurs maladies telles que l'ostéoporose et les maladies cardiovasculaires. Les quinones, par leur activité antioxydante, améliorent l'état de santé général. De nombreux médicaments approuvés cliniquement ou encore en cours d'essais cliniques contre le cancer sont des composés apparentés à la quinone [94]. un certain nombre de quinones présentent des activités biologiques importantes, telles que l'effet purgatif, ainsi que les activités antibactériennes et anticancéreuses de la juglone et de la plumbagine [19].
Lipides	Les huiles fixes, les cires, les huiles essentielles, les stérols, les vitamines liposolubles (telles que les vitamines A, D, E et K), les phospholipides et d'autres composés naturels constituent les lipides	Ils remplissent une variété de fonctions biologiques en tant que composants structurels majeurs de toutes les membranes biologiques et en tant que réservoirs d'énergie et carburant pour les processus cellulaires. Malgré le fait que les lipides soient considérés comme des métabolites végétaux fondamentaux, de nouvelles recherches ont prouvé qu'ils avaient des propriétés médicinales [75]. Les acides gras polyinsaturés contenus dans diverses huiles fixes inhibent l'excrétion des produits de peroxydation lipidique, ce qui en fait de puissants antioxydants et anti-inflammatoires. Ils sont utilisés à titre préventif pour réduire le risque d'athérosclérose et de maladie cardiaque [75].

3.3 Activités biologiques

Il est bien connu que les métabolites secondaires notamment les composés phénoliques, présents dans les plantes et présentés ci-dessus, sont responsables d'une variété d'activités biologiques observables; antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, anti-allergènes, anticancéreux, etc. Tableau (3.3).

Tableau 3.3 : Activités biologiques et usage médicinal de certaines plantes, liées aux métabolites bioactifs qu'elles contiennent.

Espèces	Métabolites bioactifs	Activités biologiques et usage médicinal
<i>Vitex negundo</i> (كف مریم)	Terpénoïdes, Iridoïdes Glycosidiques et alcaloïdes [95]	Antipaludéen, vermifuge, cicatrisant, antipyrétique, anti-inflammatoire, analgésique, antioxydant, antibactérien, hépato protecteur, anti-microfilarien [96]. Traitement des maladies oculaires, des maux de dents, de la leucodermie, de l'hypertrophie de la rate, des ulcères cutanés, de la fièvre catarrhale, de la polyarthrite rhumatoïde, de la gonorrhée et de la bronchite [95], [97].
<i>Allium sativum</i> (ثوم)	Alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, protéines et glucides, tanins, glycosides cardiaques et sucres réducteurs, flavones et flavonols	Coupes, régulation de la pression artérielle, supplément anti-inflammatoire et contrôle du taux de cholestérol.
<i>Psidium guajava</i> (جواقة صفراء)	Composés phénoliques, isoflavonoïdes, acide gallique, catéchine, épicatechine, rutine, naringénine, kaempférol, acide ascorbique, caroténoïdes (lycopène, β -carotène et β -cryptoxanthine) et glycosides	Nettoyage des plaies, anti-microbien, anti-plasmodial, anti-inflammatoire, antioxydant, anti-génotoxique, toux et nettoyage du rectum
<i>Ephedra sinica</i> (العلندة)	Il est célèbre pour contenir six alcaloïdes de la série des éphédrines [98], Flavones, Flavanols (précurseurs de tanin), Bisflavanols, Acides carboxyliques [99]	antioxydant, antiviral, anti-inflammatoire, antimicrobien [98]. hypoglycémie, cas particuliers de bloc cardiaque, hypotension orthostatique, élévation de la tension artérielle, bronchodilatation, narcolepsie, dépression [99].
<i>Chia (Salvia hispanica)</i> (الشيا)	composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes et procyanidines) [100].	capacité antioxydante, activité antimicrobienne, athérosclérose, dysfonctionnement cérébral et cancer [100].
<i>Papaver</i> (الخشخاش)	Alcaloïdes (Noscapine, sanguinarine, la berbérine, codéine, morphine) [101].	Antitussif et anticancéreux, analgésiques narcotiques, hypocholestérolémiant et le myorelaxant [101].
<i>Urtica</i> (القراص)	Stéroïdes et triterpénoïdes [102], phytostérols, saponines, flavonoïdes, tanins, stérols, acides gras, caroténoïdes, chlorophylles, protéines, acides aminés et vitamines [103]	Anti-asthmatique, Anti-inflammatoire, Antimicrobien, Antioxydant, Antiulcéreux, Hématopoïétique, Prévention de l'athérosclérose, régulateur du métabolisme des protéines [102], Cardiovasculaire,

Le présent travail, s'est essentiellement intéressé à l'évaluation des activités antimicrobiennes et antioxydantes.

3.3.1 Activités antimicrobiennes

Particulièrement dans les pays en voie de développement, les maladies infectieuses et d'origine alimentaire peuvent avoir de graves répercussions sur la santé et même entraîner la mortalité chez la population.

Partout dans le monde, en raison de l'émergence continue de micro-organismes résistants aux antibiotiques, la communauté scientifique s'est focalisée sur la recherche de nouveaux médicaments antimicrobiens plus efficaces contre les infections microbiennes persistantes [104].

Les agents antimicrobiens générés à partir de sources végétales sont souvent considérés comme naturels et moins nocifs par rapport aux produits chimiques industriels, comme souligné par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Par conséquent, et suite à la diminution de l'efficacité des antimicrobiens synthétiques ainsi que leurs effets secondaires inquiétants, un intérêt croissant a été enregistré pour la médecine à base de plantes [105,106].

3.3.1a Activité antibactérienne

- **Infections bactériennes**

Les bactéries sont partout en étant essentiels à la préservation de l'écosystème dans lequel nous vivons [107]. La majorité des micro-organismes dans le monde ne causent pas de maladies ou d'infections. Cependant les maladies bactériennes ont un impact significatif sur la santé publique. De par l'existence d'un plus grand choix de médicaments antimicrobiens efficaces contre les bactéries, les maladies bactériennes sont généralement plus faciles à traiter que les infections virales provoquées par les virus et les parasites. Cependant, la résistance bactérienne aux antibiotiques est un problème en croissance rapide avec des conséquences potentiellement dévastatrices [104]. De nouvelles espèces et de nouvelles variantes d'espèces familières continuent d'être découvertes, en particulier lorsque nous pénétrons dans de nouveaux écosystèmes. Par conséquent les infections bactériennes résistantes aux antibiotiques sont l'une des menaces mondiales les plus importantes pour la santé publique.

Les micro-organismes pathogènes ont des propriétés qui leur permettent de contourner les défenses de l'organisme et d'utiliser ses ressources. Pour prédire si une maladie se propagera après la transmission d'un agent bactérien, les caractéristiques de l'hôte sont cruciales. Ces variables comprennent la constitution génétique, l'état nutritionnel, l'âge, la durée d'exposition à l'organisme et les maladies concomitantes. De plus, l'environnement de l'hôte affecte la susceptibilité. Les défenses de l'organisme contre les infections bactériennes sont affaiblies par les polluants environnementaux, les toxines et la pollution de l'air.

Les bactéries sont classées comme à GRAM-positif ou à GRAM-négatives en fonction des caractéristiques de leur paroi cellulaire [107]. L'une des principales différences entre les organismes gram-positifs et gram-négatifs est que les bactéries gram-négatives ont tendance à produire une endotoxine qui peut provoquer la destruction des tissus, un choc et la mort. Les deux classes de bactéries diffèrent également par leur sensibilité aux antibiotiques. Les bactéries peuvent également être classées en fonction de leurs réponses de croissance en besoin d'oxygène [107].

Ce schéma changeant de la maladie et l'émergence de souches bactériennes résistantes à de nombreux antibiotiques actuellement utilisés font du besoin de nouvelles approches pour le traitement des infections, une priorité médicale.

La catéchine est l'un des composés naturels qui est devenu un puissant substitut dans le traitement des souches de bactéries résistantes aux antibiotiques. C'est un polyphénol naturel (TPP), principal abondant dans le thé vert. L'une des propriétés antimicrobiennes est liée à la catéchine et à ses dérivés, qui sont des flavonoïdes naturels abondants dans le thé [106].

3.3.1b Activité antifongique

Les antimycotiques sont des substances isolées en mycologie médicinale et capables d'inhiber spécifiquement la croissance de divers champignons responsables de lésions plus ou moins sévères. Trois types de médicaments antifongiques sont actuellement utilisés: molécules naturelles, molécules semi-synthétiques et molécules synthétiques. Ils agissent sur les cellules fongiques au niveau de l'enveloppe cellulaire, souvent en altérant leur intégrité, ou au niveau cytoplasmique.

- **Infections fongiques**

Tout au long de son histoire, l'humanité a été en proie à des maladies infectieuses qui sont l'une des principales causes de décès dans le monde. Malgré leur danger pour l'humanité, certaines de ces "menaces microbiennes" ont malheureusement été sous-estimées et négligées par les autorités sanitaires, alors même qu'elles mettent chaque année en danger la vie de millions de personnes dans le monde. Les infections fongiques représentent un exemple d'une telle maladie émergente négligée.

En conséquence, les infections fongiques deviennent de plus en plus un problème de santé mondial avec des taux élevés de morbidité et de mortalité et des conséquences socio-économiques dévastatrices. Les maladies fongiques sont généralement des mycoses superficielles, sous-cutanées ou systémiques causées par des champignons filamenteux ou des levures pathogènes pour l'homme [108]. Les mycoses sont des maladies causées par des champignons microscopiques. Avec l'augmentation de la population de patients immunodéprimés ou sous thérapie immunosuppressive, les mycoses sont devenues un problème croissant dans les soins médicaux modernes. De plus, le diagnostic de ces maladies peut être problématique, la résistance aux médicaments est très préoccupante et moins de médicaments sont disponibles par rapport aux maladies bactériennes ou virales. Les infections fongiques entraînent diverses maladies qui peuvent être locales, superficielles, allergiques ou systémiques. Les infections systémiques sont particulièrement graves et potentiellement mortelles [109].

Plusieurs facteurs contribuent aux infections opportunistes à fongique, dont certains sont difficiles, voire impossibles, à éviter. Ces facteurs peuvent être exogènes ou endogènes : la pollution, le tabagisme, certains médicaments, une mauvaise alimentation, le manque d'exercice et les substances induisant du stress sont des exemples de facteurs extrinsèques. Cependant, ces facteurs externes augmentent non seulement la susceptibilité de l'organisme aux dommages, mais provoquent également des altérations génétiques dans les cellules et un déclin de la fonction cellulaire. Les dommages aux globules blancs, les attaques d'autres cellules du système de défense des organes et un système immunitaire affaibli entraînent tous une diminution de la capacité de réponse de l'organisme.

Les espèces fongiques pathogènes impliqués dans les infections systémiques sont soit acquis à partir des milieux environnants de l'hôte, soit font partie de la flore normale chez l'homme.

La résistance acquise aux médicaments antifongiques actuellement disponibles chez les souches sensibles, ainsi que l'émergence croissante de souches fongiques moins sensibles, est un autre facteur important contribuant au développement d'infections fongiques. Bien qu'il existe de nombreuses options pharmacologiques pour les traitements antifongiques, ils sont actuellement limités à trois classes chimiques différentes : azoles, échinocandines, polyènes, les dernières représentant une molécule antifongique d'origine naturelle [79, 85, 86] et possédant le plus large spectre d'activité antifongique par rapport aux autres agents disponibles.

Les plantes naturelles sont une source précieuse de composés thérapeutiques potentiels, tels que les antifongiques naturels où la thérapie antifongique actuelle est fréquemment associée à une toxicité élevée.

Les huiles essentielles, les flavonoïdes, les alcaloïdes, les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les tanins peuvent être utilisés directement ou comme matrices pour la synthèse de nouveaux composés [108].

3.3.2 Activité antioxydante

L'étude de la capacité antioxydante représente un défi scientifique important. Un concept largement utilisé dans l'étude des propriétés biologiques de diverses plantes. Les molécules qui provoquent l'oxydation et celles qui peuvent la combattre sont présentées dans le chapitre suivant.

3.3.2a Radicaux libres et stress oxydatif

- **Radicaux libres**

Les radicaux libres peuvent être définis comme des molécules ou des fragments de molécules contenant des électrons libres dont la présence confère aux radicaux libres une réactivité considérable [110]. La formation de radicaux libres dans l'organisme est constante et importante, mais l'excès dépend de facteurs externes tels que le stress, la fatigue et une activité physique intense. Ils sont également produits sous l'action d'oxydants environnementaux tels que le tabac, la pollution, le soleil, les rayons UV, le stress, les mauvaises habitudes alimentaires, la consommation d'alcool, les fibres d'amiante et les pesticides [111]. Par exemple, les molécules d'oxygène (ou dioxygène, O₂) se caractérisent par une structure bi-radicalaire libre car leurs deux électrons isolés se trouvent dans deux orbitales à haute énergie.

L'oxyde nitrique (NO) est un radical peu réactif synthétisé à partir d'un atome d'azote et d'une molécule d'oxygène car il n'y a qu'un seul électron dans l'orbite.

3.3.2b Stress oxydant

Le stress oxydatif est défini comme une perturbation de l'équilibre entre la production de radicaux libres (espèces réactives de l'oxygène (ROS) par exemple) et les défenses antioxydantes. Les espèces réactives (RS) ou les entités oxydées sont souvent des radicaux libres, qui ont des atomes ou des groupes avec un ou plusieurs électrons non appariés dans leurs orbitales les plus externes. Ces électrons individuels ne sont pas compensés et provoquent des perturbations dans le champ magnétique, rendant ces espèces très instables, tentant alors de récupérer des électrons d'autres molécules, comme des substrats biologiques, en les oxydant. Il existe deux grandes familles d'espèces réactives : espèces réactives de l'oxygène ROS (Reactive Oxygen Species) et espèces réactives de l'azote RNS (Reactive Nitrogen Species). Les ROS sont présentes intra cellulièrement à des doses appropriées : leur concentration est régulée par l'équilibre entre leurs vitesses de formation et d'élimination, par les systèmes antioxydants. Cependant, cette homéostasie redox peut être détruite soit par une surproduction de ROS (comme le vieillissement ou l'athérosclérose), soit par une capacité antioxydante réduite (comme les personnes souffrant d'obésité et les fumeurs), d'où ce qu'on appelle le stress oxydatif. En revanche, dans certaines situations pathologiques (cancer), la production d'ERO est plus importante et prolongée, et la réponse antioxydante est insuffisante. Le déséquilibre est permanent. Il existe plusieurs causes possibles à cette perturbation de l'homéostasie redox, notamment le stress extrinsèque (favorisant les effets environnementaux), l'empoisonnement aux métaux lourds, les radiations, les carences alimentaires en antioxydants ou les anomalies génétiques.

Dans le phénomène de stress oxydatif dans les milieux biologiques, les radicaux libres mis en jeu partagent la propriété d'avoir un électron unique sur l'atome d'oxygène ou d'azote. Cela lui donne le nom d'espèces réactives de l'oxygène (ERO ou ROS) ou de l'azote (EAR ou RNS). Les espèces réactives de l'oxygène (ROS) comprennent les radicaux libres tels que le superoxyde ($O_2^{\cdot-}$), le radical hydroxyle (OH^{\cdot}), le radical peroxyde (ROO^{\cdot}) ainsi que les espèces non radicalaires telles que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) [112]. Ils peuvent être transformés en radicaux par réaction avec des métaux de transition. L'ERO et l'ERN sont connus pour jouer un double rôle dans les systèmes biologiques car ils sont nocifs, bénéfiques et même essentiels aux organismes vivants[113]:

- Ils sont utiles lorsqu'ils sont impliqués dans le rôle physiologique dans les réponses cellulaires telles que la lutte contre les substances infectieuses et leur fonction dans les systèmes de signalisation cellulaire.
- Les déséquilibres entre l'équilibre des ERO et ERN et les systèmes de défense sont nocifs pour les cellules (ADN, protéines, lipides) [110] associés au développement de nombreuses maladies graves (cancer [114], athérosclérose, arthrite) entraînant souvent l'apparition de lésions irréversibles), maladie neuro dégénérative, les pathologies articulaires, le cancer, le vieillissement [115]) : c'est le stress oxydatif [93, 94].

3.3.2c Origine et rôle de certains antioxydants

Outre les substances propres à l'organisme, les médicaments, les aliments et les espèces végétales peuvent également être des sources d'antioxydants.

Les plantes contiennent des concentrations élevées de nombreux antioxydants redox actifs, notamment des polyphénols, des caroténoïdes, des tocophérols, du glutathion, de l'acide ascorbique et des enzymes antioxydantes qui combattent les dommages oxydatifs dangereux des composants des cellules végétales:

- Elles sont des substances qui neutralisent les radicaux libres ou leurs actions. La nature a doté chaque cellule de mécanismes de protection adéquats contre les effets nocifs des radicaux libres : la superoxydedismutase (SOD), la glutathion peroxydase, la glutathion réductase, la thiorédoxine, les thiols et les liaisons disulfures sont des systèmes tampons dans chaque cellule. L' α -tocophérol (vitamine E) est un nutriment essentiel qui agit comme un antioxydant briseur de chaîne qui empêche la propagation des réactions radicalaires dans toutes les membranes cellulaires du corps humain. L'acide ascorbique (vitamine C) fait également partie du mécanisme de protection normal. D'autres antioxydants non enzymatiques comprennent les caroténoïdes, les flavonoïdes et les polyphénols apparentés, l'acide α -lipoïque, le glutathion, etc. [32, 33].
- Les antioxydants sont des molécules qui peuvent supprimer l'oxydation d'une autre molécule. Ils brisent la chaîne des réactions radicalaires en sacrifiant ses propres électrons pour alimenter les radicaux libres sans devenir les radicaux libres eux-mêmes. Il existe diverses stratégies antioxydantes pour contrecarrer et neutraliser les effets néfastes des ROS en renforçant les défenses antioxydantes endogènes ou en

renforçant les défenses non enzymatiques par l'alimentation ou par des moyens pharmacologiques [119].

Il n'existe pas de méthode formelle pour déterminer l'activité antioxydante. Il existe plusieurs méthodes pour évaluer l'activité antioxydante, chacune permettant de mesurer un groupe différent d'antioxydants. Le test le plus courant pour évaluer l'activité antioxydante est l'utilisation des tests de piégeage des deux radicaux courants utilisant l'acide 2,2'-azino-bis-3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique (ABTS) et le 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical.

Les résultats de recherche indiquent que le test ABTS est supérieur au test DPPH lorsqu'il est appliqué à une variété d'aliments végétaux contenant des composés antioxydants. La capacité antioxydante détectée par le test ABTS est significativement plus élevée dans les fruits, les légumes et les boissons par rapport au test DPPH. Ces données suggèrent que le test ABTS pourrait être plus utile que le test DPPH pour détecter la capacité antioxydante de divers aliments hydrophiles, lipophiles et hautement pigmentés [120]. Dans la présente étude, Le test DPPH pour l'activité de piégeage des radicaux a été utilisé.

3.3.2d Évaluation de l'activité antiradicalaire par piégeage du radical libre (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl : DPPH)

Les antioxydants de type phénolique réagissent selon un mécanisme de transfert d'électrons suivi de transfert de protons plus ou moins rapides, produisant des radicaux stabilisés par leur structure mésomérique conjuguée.

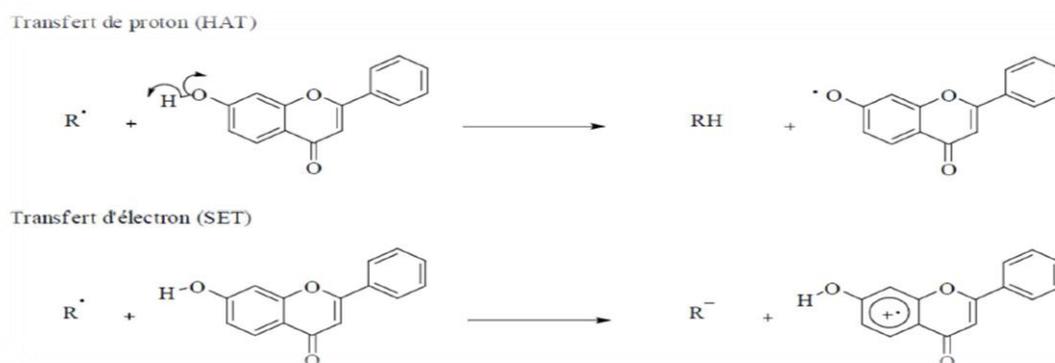


Figure 3.3 : Mécanisme d'action anti radicalaire des polyphénols[100, 101].

Le groupe hydroxyle des polyphénols est en fait un donneur d'atomes d'hydrogène. Ils peuvent réagir avec les espèces réactives de l'oxygène et de l'azote, brisant le cycle de production de nouveaux radicaux à la fin de la réaction.

- **Principe**

L'activité antioxydante a été évaluée en mesurant le pouvoir de piégeage du radical DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl), de formule brute ($C_{18}H_{12}N_5O_6$). Il existe deux mécanismes principaux par lesquels les antioxydants exercent ces propriétés [122]: l'inactivation des radicaux libres et le transfert d'électrons. Dans le premier mécanisme, le radical libre (R^*) peut éliminer un atome d'hydrogène de l'antioxydant ($ArOH$), qui devient radical. Plus l'énergie de dissociation des liaisons O-H est faible, plus la réaction d'inactivation du radical libre est facile et donc plus l'action antioxydante est importante. Le mécanisme principal d'action est le piégeage des radicaux libres par le transfert du radical H sur le DPPH•.

Dans le second mécanisme, l'antioxydant peut donner un électron au radical libre, qui devient un radical cationique. Dans ce mécanisme, plus le potentiel d'ionisation (IP) est faible, plus l'attraction d'électrons est facile, ce qui signifie une plus grande activité antioxydante, (à une couleur mauve dû à la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule) qui sera transformé en une molécule neutre et stable DPPHH de couleur jaune.

La réduction du DPPH• en DPPH-H se fait en mesurant la diminution de la coloration violette, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie de 515-518 nm.

- La capacité antioxydante de composés tels que les polyphénols sont utilisés dans les aliments pour lutter contre la peroxydation des lipides, permettant ainsi une meilleure stabilisation des aliments. Il est également recommandé pour améliorer la stabilité des pigments colorés des jus (comme le jus de betterave) et des arômes alimentaires et entre dans la composition de médicaments oraux et de cosmétiques topiques.

Conclusion

Le chapitre suivant détaille la méthodologie expérimentale utilisée au cours de cette étude en présentant l'ensemble des matériels et produits utilisés et les procédures réalisées. La recherche expérimentale peut être divisée en deux parties fondamentales : la première partie correspond à l'étude d'extraits de graines sélectionnées et la deuxième partie porte sur l'évaluation des activités biologiques (antioxydante, antibactérienne, antifongique) des extraits obtenus.

CHAPITRE IV
MATERIELS ET METHODES

4.1 Introduction

Comme nous l'avons bien souligné auparavant, les plantes considérées durant cette étude, en l'occurrence *Peganum harmala* et *Plantago ovata*, montrent une richesse et une diversité en métabolites secondaires. Au fait, les extraits préparés via les méthodes d'extraction adoptées ont été testés en utilisant différentes méthodes pour confirmer ou pas leur potentiel biologique.

Les travaux expérimentaux réalisés durant cette étude ont pour objectif d'optimiser les conditions opératoires (rendement, température, pression et potentiel biologique) qui révèlent un extrait biologiquement actif. Les conditions optimisées seront ensuite utilisées pour l'élaboration du modèle de conception moléculaire de nouveaux fluides testés à l'état supercritique, comme substituts au CO₂

Par conséquent, Le présent chapitre est une présentation détaillée de la méthodologie expérimentale adoptée, du matériel manipulé, et des protocoles opératoires suivis.

4.2 Matériel

4.2.1 Matériel végétal

- *Peganum harmala* L

Les graines utilisées sont issues de la plante *Peganum Harmala* L. récoltée en mai 2020 à Oum BOUAGHI, une région de l'est Algérien. Pour éliminer les impuretés, elles ont été lavées, séchées, puis broyées en petites particules et la poudre résultante tamisée à l'aide d'un tamis vibrant à 0.5, 0.7 et 0.9 mm, d'où la considération de trois classes de diamètres des particules. Figure (4.1) montre les échantillons de graines préparés pour l'extraction.



Figure 4.1: Échantillons de graines de *Peganum harmala* préparés pour l'extraction.

- *Plantago Ovata*

Les graines utilisées sont issues de la plante *Plantago ovata* à Jijel, Alger.

Pour cette deuxième plante la matière végétale a subi un prétraitement consistant notamment en un broyage afin d'améliorer le taux de transfert par le biais d'une plus grande surface d'échange.

La masse broyée obtenue est passée à travers un tamiseur équipé de tamis de différentes ouvertures générant des particules dont les tailles moyennes sont de 0.25, 0.55 et 0.85 mm. La figure suivante montre les échantillons de graines de *Plantago ovata*.



Figure 4.2 : Échantillons de graines de *Plantago ovata* préparés pour l'extraction.

4.2.2 Matériel biologique

L'activité antibactérienne a été testée sur quatre souches de référence : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853).

L'activité antifongique a été testée sur sept champignons : *Fusarium oxysporum*, *Fusarium nivale*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium solani*, *Alternaria sp* et *Aspergillus niger* et une levure (*Candida albicans* 570).

Ces souches bactériennes et fongiques utilisées sont bien décrites dans l'annexe B.

4.2.3 Réactifs chimiques et matériel instrumental

- Les produits chimiques utilisés ont été fournis par différentes sociétés : Méthanol pur à 99.9 %, trichlorure d'aluminium (AlCl₃), Quercetin pur à 95 % et carbonate de sodium (Na₂CO₃) de Sigma-Aldrich ; Acide gallique et Folin-Ciocalteu de BiochemChemopharma ; Chlorure d'acide (HCl) 36.5–38 % en poids par VWR Chemicals ; Vanilline et DPPH (2, 2-diphényl-1- picrylhydrazyl). Le dioxyde de carbone (CO₂) d'une pureté de 99.99 % a été fourni par Air Liquide, Algérie, NaCl, DMSO, antibiotique (CEFPIROME(LE CHLORAMPHENICOL30μg)), Antifongique (AMPHOTÉRICINE B).

- L'appareillage utilisé: évaporateur rotatif (SCI LOGEX RE 100-PRO), Spectrophotomètre UV-Vis, autoclave, dessiccateur infrarouge (IR60Q), incubateur

4.3 Préparation des extraits et dosages des composés phénoliques

4.3.1 Extraction par CO₂ supercritique

A. Description

La machine d'extraction de fluide supercritique (Separex-4219) utilisée a été acquise auprès de Separex (Champigneulle, France). La figure (4.3) montre une image de cette machine ainsi qu'un schéma simplifié montrant son fonctionnement qui peut être décrit comme suit :

Le CO₂ sortant de la bouteille est refroidi par un refroidisseur qui assure sa liquéfaction pour faciliter son pompage au moyen d'une pompe à haute pression pour s'assurer qu'il est à une pression supérieure à sa pression critique (74 bar). Il est ensuite réchauffé à une température supérieure à sa température critique (31 °C) pour être à l'état supercritique et passer dans l'extracteur contenant les matières végétales (les graines dans le cas présent) où s'effectue le transfert de masse. Après un certain temps de contact, le mélange (CO₂ supercritique - huile) est détendu et donc séparé de l'extrait liquide dans deux séparateurs en série à partir desquels l'huile est collectée. Le CO₂ peut être recyclé pour une recompression et utilisation dans une autre passe d'extraction.

La machine d'extraction est équipée de toute l'instrumentation nécessaire pour contrôler et régler les paramètres de fonctionnement de température, pression et débit de CO₂. Le pilote d'extraction comprend les équipements suivants:

- Une pompe à haute pression qui peut atteindre jusqu'à 700 bar avec un débit maximal de 200 g/min;
- Un extracteur cylindrique en acier inoxydable, de capacité de 2000 cm³;
- Deux séparateurs en série pour le fractionnement et la récupération des extraits, avec contrôle de pression pouvant atteindre 200 bars et un contrôle thermostaté de la température.

B. Principe

Le protocole de manipulation du pilote d'extraction en mode dynamique est très difficile et délicat compte tenu des paramètres opératoires qui nécessitent un contrôle. Pour cela les actions suivantes doivent être menées:

- Liquéfaction du CO₂ avant passage dans la pompe, par fonctionnement du groupe de surgélation jusqu'à 2°C, pesée de la masse initiale de l'échantillon avec une balance à haute pression, préparation de l'échantillon et chargement dans l'extracteur après avoir serré les frittées avec la face lisse vers l'intérieur, ce dernier étant fermé par une bride métallique.
- Vérification de toutes les vannes devant être fermées, entrée des instructions des différents capteurs et réglage les indications de température et de débit.
- Ouverture de la bouteille de CO₂, puis pompage vers l'extracteur après ouverture de la vanne, réglage de la pression de fonctionnement de l'extracteur et de l'ouverture vers les séparateurs pour assurer l'équilibre et maintien de la pression opératoire.
- Une fois l'extraction terminée, arrêt du pompage, dépressurisation de tout le circuit de conduites, extracteur et séparateurs compris à l'aide des vannes de sortie (évacuation du CO₂), éteinte des consignes de température, nettoyage du réceptacle hors de l'extracteur.
- Rinçage par CO₂ supercritique (extracteur vide) pour nettoyer l'appareil, éliminer les résidus de l'expérience précédente et enfin laisser au repos la machine.

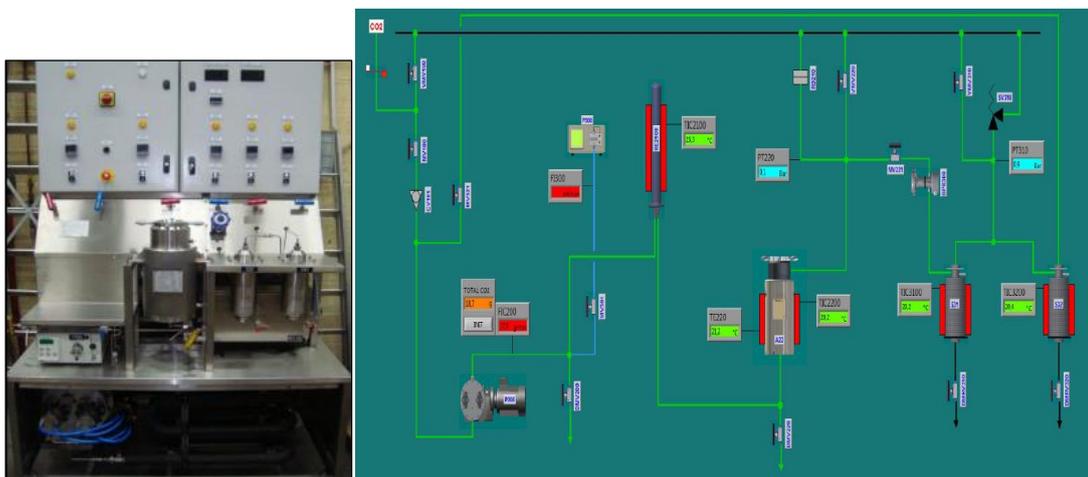


Figure 4.3: Pilote d'extraction par CO₂ supercritique.

C. Extraction à partir des plantes naturelles considérées

Le plan d'expérience Box-Behnken a été appliqué pour optimiser le rendement d'extraction pour les deux plantes (*Peganum harmala* et *Plantago ovata*) considérant le diamètre, la température et la pression comme facteurs.

Quinze essais ont été menés pour déterminer les conditions optimales de rendement d'extraction.

Le tableau (4.1) montre les trois facteurs choisis pour cette étude et désignés par x_1 (Diamètre de particules (mm)), x_2 (Température (°C)) et x_3 (Pression (bar)) et variant selon trois niveaux codés (+1, 0, -1)

La matrice de Box-Behnken est présentée dans le tableau 4.2 avec les 15 expériences réalisées selon les trois facteurs sélectionnés et le rendement en huile a été pris comme réponse. La relation entre les variables indépendantes et la réponse a été exprimée selon l'expression polynomiale du second degré (Eq.4.1) et qui est utilisée pour la prédiction de la réponse optimale.

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_{12} + a_{13}x_{13} + a_{23}x_{23} + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + a_{33}x_3^2 \quad (\text{Eq.4.1})$$

avec y désignant la réponse estimée, x_1 le diamètre des particules, x_2 la température et x_3 la pression sont les paramètres indépendants, a_0 le coefficient constant, a_1 , a_2 et a_3 les coefficients linéaires, a_{12} , a_{13} et a_{23} les coefficients d'interaction et a_{11} , a_{22} et a_{33} les coefficients quadratiques.

Les résultats expérimentaux du plan de Box-Behnken ont été ajustés avec ce modèle exprimée dans l'équation (4.1).

Tableau 4.1: Le niveau des variables choisies pour le plan de Box-Behnken.

Variables (codé)	<i>Peganum harmala</i>			<i>Plantago ovata</i>		
	x_1 (mm)	x_2 (°C)	x_3 (bar)	x_1 (mm)	x_2 (°C)	x_3 (bar)
-1	0.5	35	100	0.25	40	100
0	0.7	45	200	0.55	50	200
1	0.9	55	300	0.85	60	300

Tableau 4.2: Matrice expérimentale de l'extraction par CO2 supercritique.

Run	<i>Peganum harmala</i>			<i>Plantago ovata</i>		
	d (mm)	T (°C)	P (bar)	d (mm)	T (°C)	P (bar)
1	0.5	35	200	0.25	40	200
2	0.9	35	200	0.85	40	200
3	0.5	55	200	0.25	60	200
4	0.9	55	200	0.85	60	200

5	0.5	45	100	0.25	50	100
6	0.9	45	100	0.85	50	100
7	0.5	45	300	0.25	50	300
8	0.9	45	300	0.85	50	300
9	0.7	35	100	0.55	40	100
10	0.7	55	100	0.55	60	100
11	0.7	35	300	0.55	40	300
12	0.7	55	300	0.55	60	300
13	0.7	45	200	0.55	50	200
14	0.7	45	200	0.55	50	200
15	0.7	45	200	0.55	50	200

4.3.2 Extraction par Soxhlet

Une extraction par Soxhlet a été menée en continue pour les deux plantes. Une masse de 20 g de matière végétale a été introduite dans une cartouche de cellulose fixée sur un flacon et surmontée d'un réfrigérant avec un volume de 200 ml de méthanol. L'extraction est considérée comme achevée lorsque le solvant d'extraction devient limpide. Les extraits obtenus Figure (4.4) ont été évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif montré par la figure 4.5, puis conservés à 4°C.



Figure 4.4: Extraction par Soxhlet.



Figure 4.5: Évaporateur rotatif.

La teneur en humidité de la matière végétale utilisée pour l'extraction a été mesurée à l'aide d'un dessiccateur (dessiccateur infrarouge). L'analyseur d'humidité donne rapidement des valeurs de teneur en humidité par simple lecture figure (4.6).



Figure 4.6: Dessiccateur infrarouge (Hygrometer (Denver instrument)).

4.3.3 Rendement d'extraction

Le rendement en huile des plantes sélectionnées a été estimé en tenant compte du taux d'humidité selon l'équation suivante[123]:

$$R \% = \frac{\text{Masse d'huile extraite}}{\text{Masse initiale de la matière végétale sèche}} \times 100 \quad (\text{Eq.4.2})$$

Avec :

Masse initiale de la matière végétale sèche = Masse de la masse initiale de la matière végétale humide $\times (1 - Th)$, Th étant la teneur en eau.

4.3.4 Dosages des composés phénoliques

4.3.4a Analyse quantitative des extraits préparés

- **Dosage des polyphénols totaux**

Un volume de 2.5 ml de réactif de Folin (10 fois dilué) a été ajouté à 500 μ l d'échantillon ou standard (préparé dans le méthanol) avec des dilutions adéquates. Après 5 min, 2 ml d'une solution de carbonate de sodium (7.5 %, m/v) ont été ajoutés au milieu réactionnel. Après 2h d'incubation à température ambiante l'absorbance a été mesurée à 760 nm[124]. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique et exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait), comme montré par l'annxe C (figure 1C).

- **Dosage des flavonoïdes**

La méthode du trichlorure d'aluminium [125] a été utilisée pour quantifier les flavonoïdes dans les extraits du *Plantago*. Un volume de 1 ml de la solution d'AlCl₃ (2% dans le méthanol) a été ajouté à 1 ml d'échantillon ou standard (préparés dans le méthanol).Après 10 min d'incubation à 37°C dans l'obscurité, l'absorbance a été lue à 430 nm. La concentration des flavonoïdes est déduite à partir d'une gamme d'étalonnage établie avec la quercétine et est exprimée en milligramme d'équivalent de quercétine par gramme d'extrait (mg QE/g d'extrait), comme montré par l'annxe C (figure 2C).

- **Dosage des tanins condensés**

Une aliquote d'extrait méthanolique de 500 ul a été ajoutée à 3 ml de vanilline à 4 % et 1.5 ml d'acide chlorhydrique concentré ou d'acide sulfurique. Après homogénéisation, le mélange est incubé à température ambiante pendant 15 min[126]. L'absorbance a été mesurée par rapport à un blanc contenant du méthanol pur. Les teneurs en tanins condensés ont été déterminées par référence à une gamme étalon de catéchines. Les teneurs en tanins condensés ont été exprimées en mg d'équivalent catéchine par gramme de matière sèche (mg EC/g E) comme illustré par l'annxe C (figure 3C).

4.4 Évaluation des Activités biologiques

4.4.1 Activité antioxydante

- **Effet scavenger du radical DPPH**

Pour étudier l'activité antiradicalaire des différents extraits, la méthode qui utilise le DPPH (diphénylpicryl-hydrazyl) comme un radical libre relativement stable a été adoptée et ce selon le protocole décrit par [127], [128]. Dans ce test les antioxydants réduisent le diphénylpicryl-hydrazyl ayant une couleur violette en un composé jaune, dont l'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu donneur de protons [129]. Des extraits de concentrations différentes ont été ajoutés, à volume égal, à une solution méthanolique de DPPH (100 µM). Après 15 min à température ambiante, l'absorbance a été enregistrée à 517 nm. La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé pour chaque concentration à 517nm après 15 min d'incubation à l'obscurité et à température ambiante. Le contrôle positif est représenté par une solution d'un antioxydant standard, l'acide ascorbique dont l'absorbance a été mesuré dans les mêmes

conditions que les échantillons et pour chaque concentration, le test est répété trois fois. L'activité antiradicalaire est estimée selon l'équation ci-dessous:

$$\text{Inhibition \%} = \frac{Abs_{control} - Abs_{Echantillon}}{Abs_{control}} \times 100 \quad (\text{Eq.4.3})$$

Avec $Abs_{Echantillon}$ l'absorbance de la réaction en présence d'échantillon (dilution d'échantillon + solution DPPH) et $Abs_{control}$ l'absorbance de la réaction de contrôle (solvant d'échantillon + solution DPPH).

4.4.2 Activité antibactérienne

4.4.2a Méthode des disques de diffusion sur gélose

Les extraits obtenus des deux plantes ont été testés pour évaluer l'activité antibactérienne, par la méthode des disques de diffusion[130], contre de différentes bactéries (*Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Escherichia coli* (ATCC 25922) et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)).

Ces bactéries doivent être repiquées par la méthode de strie sur la gélose Mueller Hinton, et ensuite incubées à 37 °C pour l'obtention des colonies fraîches qui vont servir à la préparation de l'inoculum.

Cette dernière a été préparée à partir de ces cultures jeunes de suspensions bactériennes à l'aide d'une pipette pasteur scellée, qui a été déchargée dans 10 ml d'eau physiologique stérile (0.9%), puis la suspension bactérienne a été agitée. La turbidité des suspensions est fixée et a été déterminée par spectrophotométrie par une densité optique entre (0.08 et 0.1) à 630 nm.

A. Ensemencement

Après l'ajustement de la turbidité de la suspension servant d'inoculum, un écouvillon stérile a été trempé dans la suspension. Ce dernier a servi à étaler la surface entière de la gélose à trois reprises, de haut en bas, en stries serrées. Après chaque application, la boîte a été tournée de 60° environ afin d'assurer une distribution homogène de l'inoculum. Enfin, l'ensemencement s'est achevé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

B. Préparation des disques

Une fois l'ensemencement a été effectué, des disques de 7 mm de diamètre ont été découpés sur papier filtre, stérilisés imprégnés chacun de 15 µl d'extrait. A l'aide d'une pince stérile, les disques sont placés sur la surface des milieux préalablement ensemencés.

Les boîtes ont été incubées pendant 18 à 24 heures à 37 °C.

C. Lecture des résultats

Après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C, l'effet des extraits se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition circulaire transparente autour de disque correspondant à l'absence de la croissance bactérienne. Ces diamètres produits sont mesurés en millimètres à l'aide d'une règle, et comparés à ceux obtenus par le témoin positif.

Plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible (toutes les tests sont effectués en duplicata).

4.4.3 Activité antifongique

Pour la détermination de l'activité antifongique, deux méthodes différentes ont été utilisées :

A. Méthode de concentration minimale inhibitrice

- **Protocole**

Deux champignons phytopathogènes à savoir: *Fusarium oxysporium f. splycopersici* (FOL) souche 4287 et *Alternaria sp*, ont été testés pour la toxicité fongique en évaluant l'inhibition de la croissance mycélienne des agents phytopathogènes.

L'activité inhibitrice des différents composés, sur la croissance mycélium des deux agents phytopathogènes, est déterminée en mesurant la croissance radiale du champignon sur milieu PDA (Pomme de terre, Dextrose, Agar), contenant le complexe à tester. Ainsi, un volume de 1 ml de solution de DMSO contenant 5 mg de produit a été ajouté à 100 ml de milieu PDA à 60°C, préalablement stérilisé puis réparti dans 4 boîtes de Pétri. De même, 1 ml de DMSO a été ajouté à 100 ml de milieu PDA, et a été considéré comme un contrôle positif. Le contrôle négatif contient le milieu PDA sans aucun autre produit[131], [132].

Dans un premier temps, cinq niveaux de dilution (4, 5, 6,7 et 8%) des extraits purs ont été évalués contre *Fusarium oxysporium f. splycopersici* (FOL) souche 4287. Ensuite, l'expérience a été répétée avec une dilution de 10% et également en utilisant de l'huile brute.

Expérimentalement, un disque de 5 mm de diamètre est prélevé sur une jeune culture fongique et est déposé aseptiquement au centre de la boîte de Pétri contenant le milieu PDA et le produit à tester. L'expérience a été répliquée 4 fois pour chaque traitement. Après 6

jours d'incubation à 25°C, la croissance mycélienne de l'agent phytopathogène a été mesurée à l'échelle millimétrique.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition de la croissance de chaque champignon par chaque produit par rapport aux diamètres moyens des colonies de chaque champignon cultivé dans le milieu témoin. Ainsi, l'activité d'inhibition a été exprimée en pourcentage et a été calculée selon l'expression :

$$I = (C - T / C) \times 100 \quad (\text{Eq.4.4})$$

Avec : I = taux d'inhibition en % ; C = croissance radiale de l'agent phytopathogène en mm sur milieu PDA avec DMSO (témoin) ; T = la croissance radiale, en mm, de l'agent phytopathogène sur milieu PDA contenant le complexe à tester.

B. Méthode des disques de diffusion

Le test d'évaluation de l'activité antifongique des extraits concernant les deux plantes a été testé en utilisant la méthode de diffusion sur gélose en utilisant les disques.

Ce test a été évalué contre sept champignons: (*Fusariumoxysporum*, *Fusarium nivale*, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium roseum*, *Fusarium solani*, *Alternaria* sp et *Aspergillus niger*) et une levure (*Candida albicans* 570).

Ces champignons sont cultivés sur milieux PDA (200 g de pomme de terre, 20 g de glucose et 20 g d'agar dans 01 litre d'eau distillé) à 28°C pendant 07 jours.

A partir des cultures précédentes (07 jours), des suspensions fongiques ont été préparées avec DO de 0.12-0.15 à 530 nm. A partir de ces suspensions, les souches ont été étalées sur des milieux solides PDA par écouvillonnage, et le même principe de l'activité antibactérienne a été suivi pour préparer les disques et aussi pour la lecture des résultats.

L'incubation a été réalisée à 28°C pour toutes les boîtes et les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés en millimètres chaque 48 heure. Tous les tests ont été effectués en duplicata.

4.5 Analyse de l'huile de *Peganum harmala* et *Plantago ovata* par CPG-SM (ou GS-MS)

Pour l'identification et la détection des composés présents dans les huiles obtenues à partir des plantes considérées, la méthode de chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG – SM) a été utilisée. Cette identification a pour but de

détecter les composés présents dans les extraits qui sont liés à des activités biologiques intéressantes et donc d'essayer de détecter les composés bioactifs. Ceci pourrait être pris en considération dans le développement de la méthode de conception proposée.

- **Principe de la méthode**

Cette méthode d'analyse permet la séparation des divers constituants d'un mélange dans une colonne chromatographique et leur identification grâce à leur spectre de masse.

La spectrométrie de masse est une méthode d'identification de composés basée sur le fractionnement des molécules et la détermination de leur structure par la masse des ions fragments obtenus.

Les chromatogrammes et les spectres de masse sont alors stockés dans la mémoire d'un micro-ordinateur permettant le traitement et la visualisation des données, ainsi que la comparaison des spectres obtenus avec une bibliothèque de spectres de références.

- **Les conditions opératoires**

- **Protocole 1 (avec estérification): les acides gras**

Les échantillons analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse selon les conditions opératoires suivantes :

Tableau 4.3: Conditions d'analyse par GC-MS (Protocole 1).

Appareillage	GCMS-TQ8040 NX
Température de l'injecteur	250 °C
Température de la colonne	Par programmation de température <ul style="list-style-type: none"> • Température initiale : 70 °C pendant 10,00 min • 10.0 °C/min à 130 °C, pendant 2,00 min • 3.0 °C/min à 220 °C, pendant 4.00 min • 10.0 °C/min à 280 °C, pendant 7.00 min
Le mode d'injection	split
Injection de volume	0.2 µL

- **Protocole 2 (sans estérification)**

Tableau 4.4: Conditions d'analyse par GC-MS (Protocole 2).

Appareillage	GC/MS Perkin Elmer
colonne	Capillaire Apolaire Elite-5-MS(5%)diphenyl, 95% dimethylpolysiloxane, 30 m × 0.25 mm i.d. × 0.25 mm film thickness)
Température de l'injecteur	250 °C

Température de la colonne	Par programmation de température <ul style="list-style-type: none">• Température initiale : 50 °C pendant 5,00 min• 5.0 °C/min à 140 °C.• 7.0 °C/min à 275 °C, pendant 10.00 min
Le mode d'injection	split
Injection de volume	1.0 µL

Conclusion

Ce chapitre a permis de décrire les équipements et les méthodes utilisés dans notre travail, fournissant ainsi une base solide pour le chapitre suivant où nous présenterons les résultats de notre étude.

CHAPITRE V
RESULTATS ET DISCUSSIONS

5.1 Introduction

Le présent chapitre est dédié à la présentation des résultats obtenus durant notre travail de thèse. Par conséquent, il a été convenu de présenter les résultats en trois parties par souci de clarté.

La première est consacrée aux résultats expérimentaux obtenus par le biais de procédés d'extraction non conventionnels (extraction par fluide supercritique) et conventionnels (extraction par Soxhlet) pour chaque plante considérée. Ceci a permis de comparer les deux voies d'extraction, particulièrement par rapport au rendement d'extraction. Ensuite, la deuxième partie concerne essentiellement les résultats des activités biologiques considérées à savoir l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique. Et finalement, la troisième partie, englobe tous les résultats de la modélisation thermodynamique.

5.2 Rendement d'extraction

5.2.1 *Peganum harmala L*

5.2.1a Extraction par CO₂ supercritique

Différents extraits d'huile obtenus au moyen de l'extraction au dioxyde de carbone supercritique sont montrés par la figure (5.1). Il peut être constaté que ces extraits présentent deux phases distinctes de couleurs et de quantités différentes, selon les conditions opératoires fixées.

Ceci peut être considéré comme un résultat très important de par le fait que les paramètres opératoires peuvent être manipulés pour agir sur la composition de l'extrait et aussi sur le rendement d'extraction et ce selon les objectifs fixés.

Afin d'examiner l'influence de la taille des graines, un diamètre plus petit, de 0.3 mm a été testé et les résultats présentés dans le tableau 5.2 montrent généralement que pour les mêmes conditions de température et de pression, les valeurs du rendement d'extraction sont nettement plus grandes comparativement à celles obtenues pour des diamètres de graines de 0.5, 0.7 et 0.9 mm, d'où l'importance de la surface disponible pour le transfert de matière de la plante vers le CO₂ supercritique.



Figure 5.1: Différents extraits de graines de *Peganum harmala* par CO₂ supercritique dans différentes conditions.

Les valeurs expérimentales obtenues pour le rendement d'extraction d'huile par CO₂ supercritique sont montrées par les tableaux (5.1 & 5.2) suivants :

Tableau 5.1: Résultats expérimentaux de l'extraction d'huile de *Peganum Harmala*.

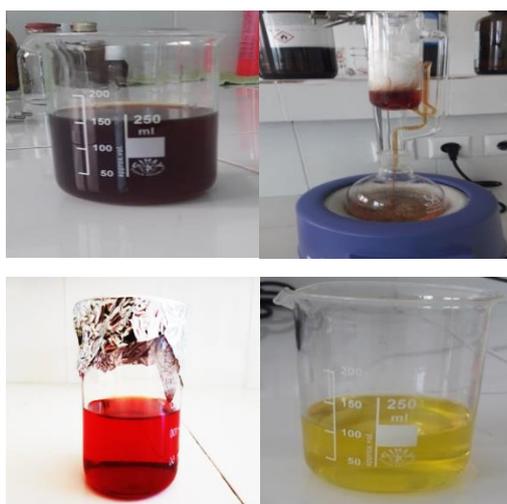
Essai	d (mm)	T (°C)	P (bar)	R _{exp.}	R _{prédit.(Eqs. 4.1)}
1	0.5	35	200	5.3788	5.297
2	0.9	35	200	1.7336	1.652
3	0.5	55	200	7.9673	8.049
4	0.9	55	200	3.7333	3.815
5	0.5	45	100	2.8404	2.471
6	0.9	45	100	1.1220	0.753
7	0.5	45	300	11.744	12.113
8	0.9	45	300	5.5830	5.952
9	0.7	35	100	3.9343	4.385
10	0.7	55	100	1.5443	1.833
11	0.7	35	300	7.0832	6.795
12	0.7	55	300	14.7147	14.264
13	0.7	45	200	9.6333	9.569
14	0.7	45	200	10.8084	9.569
15	0.7	45	200	8.2671	9.569

Tableau 5.2: Résultats expérimentaux de l'extraction d'huile de *Peganum harmala*.

Essai	d (mm)	T (°C)	P (bar)	R _{exp.}
1'	0.3	35	200	13.12
2'	0.3	55	200	10.07
3'	0.3	45	100	02.35
4'	0.3	45	300	13.21
5'	0.3	55	300	15.50

5.2.1bExtraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet a permis une récupération d'huile à partir du *Peganum harmala*, avec des rendements d'extraction de 20.66 et 53.99%, utilisant comme solvants l'hexane et le méthanol, respectivement. Les résultats obtenus confirment l'influence du choix de solvant sur le processus d'extraction des composés bioactifs d'intérêt. La figure 5.2 montre deux couleurs différentes obtenues en fonction du solvant choisi: jaune et rouge correspondant à l'hexane et le méthanol, respectivement.

**Figure 5.2:** Extraits de graines de *Peganum harmala* par Soxhlet.

5.2.2Plantago ovata

5.2.2aExtraction par CO₂ supercritique

Les résultats obtenus à l'aide du dispositif expérimental d'extraction par CO₂ supercritique, sont montrés dans le tableau (5.3), donnant la matrice qui regroupe les niveaux des différents facteurs influençant le processus ainsi que les valeurs correspondantes de la réponse, par le biais des différentes expériences menées.

Les rendements expérimentaux en huile obtenus, varient entre 2.291 et 11.3%. Cette différence résulte des valeurs adoptées pour les différents facteurs considérés, d'où l'influence de ces dernières sur le rendement d'extraction.

Tableau 5.3: Valeurs expérimentales et calculées du rendement d'extraction de l'huile à partir du *Plantago ovata*.

Essai	d (mm)	T (°C)	P (bar)	R % expérimental	R % prédit
1	0.25	40	200	10.81	10.4440
2	0.85	40	200	3.294	3.6083
3	0.25	60	200	11.3	10.9858
4	0.85	60	200	3.353	3.7190
5	0.25	50	100	9.253	9.6844
6	0.85	50	100	2.291	2.0421
7	0.25	50	300	9.996	10.2449
8	0.85	50	300	4.216	3.7846
9	0.55	40	100	2.851	2.7856
10	0.55	60	100	2.52	2.4029
11	0.55	40	300	3.111	3.2281
12	0.55	60	300	4.198	4.2634
13	0.55	50	200	4.611	4.0563
14	0.55	50	200	3.677	4.0563
15	0.55	50	200	3.881	4.0563

5.2.2b Extraction par Soxhlet

Le méthanol a été utilisé comme solvant. Pour les tailles des particules, deux valeurs moyennes de 250 et 550 μm , ont été utilisées.

Les résultats montrent que le méthanol en tant que solvant a donné l'extrait de rendement le plus élevé à une taille de particules de 250 μm (16,84 %), suivi d'une taille de particules de 550 μm (6,87 %). Il démontre que la taille des particules de 250 μm est assez efficace pour le rendement d'extraction.

5.3 Modèle de Box-behnken et analyse statistique

5.3.1 *Peganum harmala* L

5.3.1a Rendement d'extraction d'huile de *Peganum harmala*

En utilisant les valeurs de rendement d'extraction d'huile mesurées expérimentalement Tableau (5.1), une relation polynomiale de second ordre entre la réponse (% de rendement) et les variables indépendantes (taille des particules, température et pression) a été obtenue par des régressions linéaires multiples à l'aide de la *version 16.0.01* du logiciel Minitab et exprimée comme suit:

$$R\% = -61,4 + 115,9 d + 1,190 T + 0,0059 P - 79,5 d * d - 0,01685 T * T - 0,000107 P * P - 0,074 d * T - 0,0555 d * P + 0,002505 T * P \quad (\text{Eq.5.1})$$

Les valeurs de rendement d'extraction d'huile prévues sont calculées à l'aide de l'équation (5.1) et la comparaison avec les valeurs expérimentales est présentée dans la figure (5.3) suivante:

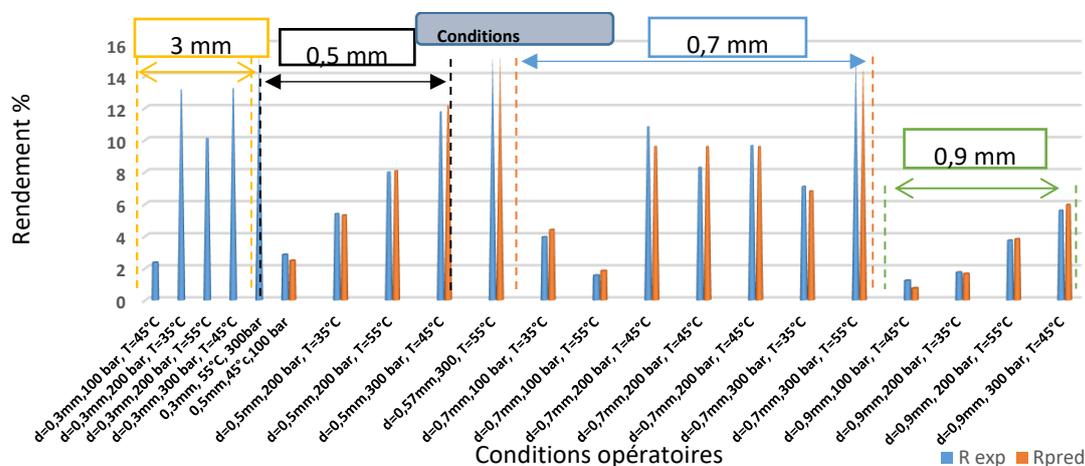


Figure 5.3: Comparaison des valeurs expérimentales et des résultats prédits de l'extraction d'huile de *Peganum harmala* par CO₂ supercritique.

Il peut être constaté que les résultats de rendement d'extraction calculés sont en assez bon accord avec les valeurs expérimentales, confirmant la fiabilité de l'approche utilisée. Le meilleur rendement est d'environ 14.27 % et a été obtenu pour une granulométrie de 0.7 mm, à une température et une pression de 55°C et 300 bars, respectivement.

5.3.1b Analyse quantitative des extraits *Peganum harmala* préparés

Des équations de régression en unités non codées pour le TPC et le TFC ont été développées et sont exprimées respectivement par les équations (5.2 & 5.3). Les résultats obtenus à partir de ces expressions sont présentés dans le tableau 5.4.

$$TPC = -3,6 - 117 d + 6,65 T - 0,668 P + 291,0 d^2 - 0,0399T^2 + 0,001153 P^2 -$$

$$6,08 dT + 0,064 dP + 0,00272 TP \quad (\text{Eq.5.2})$$

$$TFC = 3,70 + 13,7 d - 0,355 T + 0,0428 P + 12,63 d^2 + 0,00873 T^2 - 0,000082P^2 -$$

$$0,628 dT - 0,0155 dP - 0,000027 TP \quad (\text{Eq.5.3})$$

- **Dosage des polyphénols totaux**

Les analyses quantitatives des phénols totaux ont été déterminées à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'annexe C (figure 1C) où l'acide gallique a été utilisé comme étalon. Les valeurs obtenues sont exprimées en mg EAG/g (Extrait) et sont montrées dans le tableau (5.4) où il peut être observé que les teneurs en polyphénols totaux des différents extraits ont varié entre 21.90 ± 1.24 et 66.50 ± 0.66 mg

EAG/g E. Cette dernière valeur, la plus élevée, a été obtenue pour une granulométrie de 0.9 mm et à 45°C et 100 bars.

A partir de ces résultats, il peut être déduit que la teneur phénolique dans les extraits obtenus dépend des conditions opératoires de l'extraction du dioxyde de carbone supercritique, d'où leur grande influence sur la composition de l'huile extraite.

- **Dosage des flavonoïdes**

Les niveaux de flavonoïdes des extraits ont été calculés à partir de la courbe d'étalonnage de l'annexe C (figure 2C) tracée en utilisant la quercétine comme standard. Ils sont exprimés en termes de mg EQ/g E comme montré dans le tableau (5.4) et où les résultats montrent que les teneurs totales en flavonoïdes étaient pratiquement constantes variant juste entre 4.254 et 4.39 mg EQ/g E dans la majorité des conditions opératoires utilisées. Cependant ils ont montré des variations importantes à d'autres conditions comme (0.9 mm, 35°C et 200 bar), (0.5 mm, 55°C et 200 bar) et (0.9 mm, 45°C et 300 bar), avec un TFC 7.56, 6.22 et 2.90 mg QE/g E respectivement. Ceci peut s'expliquer par l'effet des conditions opératoires sur la composition de l'huile extraite.

- **Dosage des tanins condensés**

Pour la teneur en tanin, les résultats ont été déterminés à partir de l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'annexe C (figure 3C), déterminée en utilisant la catéchine comme étalon. Les résultats présentés dans le tableau (5.4) révèlent que l'extrait obtenu pour une granulométrie, une température et une pression de 0.9 mm, 35°C et 200 bars, respectivement, a la plus haute teneur en tanins condensés avec une valeur de 74.94 mg EC / gE.

Par contre l'extrait avec 0.9 mm, 45°C et 300 bar a enregistré la teneur la plus faible avec une concentration de 25.81 mg CE/gE. Cette variation montre bien qu'à granulométrie fixe, l'extraction des tanins condensés est fortement influencée par les consignes de température et de pression.

Tableau 5.4 : Résultats de la conception expérimentale pour TPC, TFC et TTC (par CO₂ supercritique).

	D mm	T °C	P bar	TPC (mg GAE/g E)		TFC (mg QE/g E)		TTC(mg CE/ gE)
				expérimentale	prédite	expérimentale	prédite	expérimentale
1	0.5	35	200	28.80 ± 2.73	26.04	4.32 ± 0.019	4.52	55.81 ± 3.13
2	0.9	35	200	59.69 ± 1.01	62.12	7.56 ± 0.83	7.03	74.94 ± 1.85
3	0.5	55	200	39.66 ± 2.46	37.23	6.22 ± 0.31	6.75	38.83 ± 3.52

4	0.9	55	200	21.90 ± 1.24	24.67	4.45 ± 0.05	4.24	48.65 ± 4.69
5	0.5	45	100	52.11 ± 3.44	52.39	4.37 ± 0.016	3.83	40.05 ± 1.07
6	0.9	45	100	66.50 ± 0.66	61.60	4.25 ± 0.056	4.45	52.90 ± 1.24
7	0.5	45	300	37.01 ± 1.81	41.92	4.26 ± 0.016	4.06	53.09 ± 4.30
8	0.9	45	300	56.52 ± 3.60	56.23	2.90 ± 0.150	3.44	25.81 ± 0.88
9	0.7	35	100	48.17 ± 2.39	50.64	4.29 ± 0.011	4.62	47.17 ± 0.29
10	0.7	55	100	29.94 ± 1.66	32.08	4.38 ± 0.016	4.40	49.65 ± 2.28
11	0.7	35	300	39.42 ± 1.66	37.28	4.30 ± 0.016	4.29	44.57 ± 4.01
12	0.7	55	300	32.07 ± 2.00	29.59	4.28 ± 0.014	3.95	39.25 ± 4.46
13	0.7	45	200	28.08 ± 0.94	29.87	4.258 ± 0.013	4.26	46.11 ± 1.75
14	0.7	45	200	34.02 ± 1.57	29.87	4.265 ± 0.016	4.26	67.33 ± 04.55
15	0.7	45	200	27.50	29.87	4.258	4.26	56.50

Selon les résultats obtenus, les trois paramètres ont montré un effet significatif sur la teneur en polyphénol (TPC) dans les huiles extraites. Une diminution significative de l'activité et du TPC peut être notée à la pression et à la température les plus élevées de 300 bars et 55 °C, respectivement, et avec la plus petite taille de particules de 0.5 mm.

La diminution du pourcentage de polyphénols avec la diminution de la taille des particules peut s'expliquer par la perte de l'extrait lors du broyage. De plus, une température élevée peut affecter les composés thermosensibles (thermolabiles), pouvant induire leur décomposition, ce qui explique le faible TPC résultant dans l'huile.

Les figures (5.4a & b) montrent les effets des paramètres opératoires sur le TPC, le TFC et le TTC des extraits d'huile de Peganum Harmala. La Figure (5.4a) montre que pour une granulométrie fixe de 0.7 mm et à une pression de 100 bar, un effet négatif sur le TPC et le TTC a été observé lorsque la température a varié de 35 à 55°C, où le TPC et le TTC ont diminué et augmenté, respectivement. Toujours à partir de la figure (5.4a) et pour une granulométrie de 0.7 mm, un effet négatif de la température sur les résultats a été observé puisque l'augmentation de 35 à 55°C a entraîné une diminution de la teneur en polyphénols. La figure (5.4b) montre que le TPC et le TTC ont augmenté lorsque la valeur de la pression a diminué prenant la valeur la plus basse de 100 bar à 45°C, lorsque la taille des particules est passée de 0.5 à 0.9 mm. De plus la valeur TPC la plus élevée a été observée pour les plus grandes tailles de particules de 0.9 mm à 45 °C et 100 bars. Ceci peut être considéré comme un comportement inhabituel étant donné que le transfert de matière est amélioré avec de petites tailles de particules qui fournissent une plus grande surface de transfert.

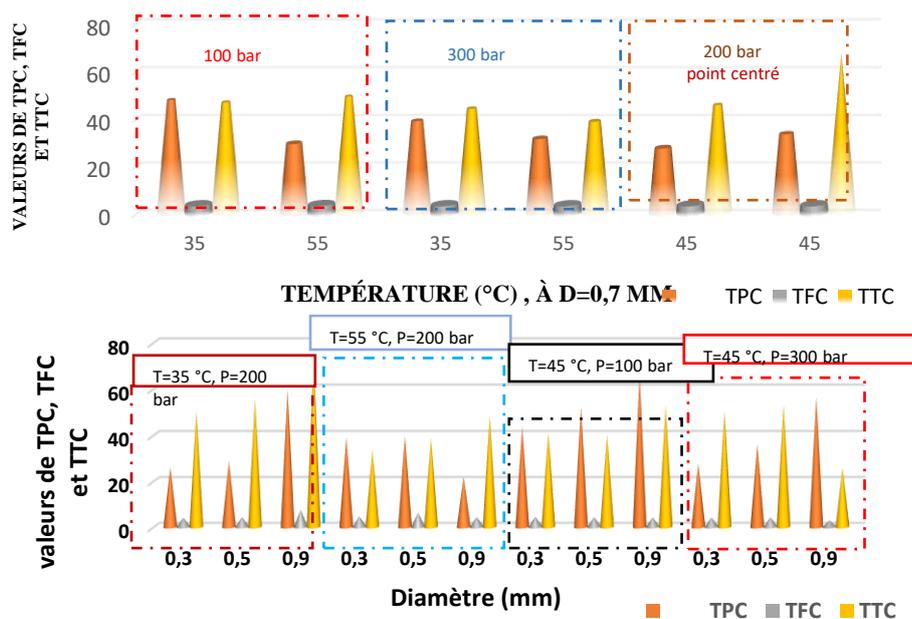


Figure 5.4: Effet des paramètres opératoires sur le TPC, le TFC et le TTC des extraits supercritiques de *Peganum harmala*.

5.3.1c Analyse de la variance

L'analyse statistique du modèle a été réalisée sous forme d'analyse de variance (ANOVA) et les résultats sont présentés dans le tableau (5.5).

Tableau 5.5: Analyse des résultats de variance pour les modèles quadratiques.

Source	F-Value	P-Value	F-Value	P-Value	F-Value	P-Value
	R %		TPC (GAE/ g E)		TFC (QE/ g E)	
Model	29.22	0.001	11.10	0.008	5.03	0.045
Linear	58.32	0.000	10.35	0.014	0.50	0.696
d	35.44	0.002	11.50	0.019	0.00	0.999
T	13.79	0.014	14.33	0.013	0.52	0.502
P	125.74	0.000	5.22	0.071	0.99	0.366
Square	17.89	0.004	14.24	0.007	7.28	0.028
d*d	42.67	0.001	20.46	0.006	3.09	0.139
T*T	11.96	0.018	2.57	0.170	9.24	0.029
P*P	4.79	0.080	20.06	0.007	8.08	0.036
2-Way Interaction	11.46	0.011	8.70	0.020	7.32	0.028
d*T	0.10	0.766	24.60	0.004	20.67	0.006
d*P	5.63	0.064	0.27	0.624	1.26	0.312
T*P	28.66	0.003	1.23	0.318	0.01	0.925
R² (%)	98.13		95.16		90.06	
R²(adj) (%)	94.78		86.45		72.16	

Cette analyse comprend le test de Fisher qui permet de comparer, pour un risque fixé à l'avance, le Fobs calculé dans le tableau précédent avec un F (critique) lu dans le tableau

de Fisher-Snedecor avec $(p-1)$ et $(n - p)$ degrés de liberté (Voir Annexe D). Les valeurs F obtenues pour le rendement, TPC et TFC sont de 29.22, 11.10 et 5.03, respectivement et sont supérieures au F tabulé (pour le risque 0.05, $F_{0,05}(9, 5) = 4.77$) [133], [134]. Par conséquent, il peut être confirmé que le modèle est assez fiable pour la prédiction des résultats expérimentaux.

Afin de vérifier si le facteur est significatif ou pas, le critère de student a été utilisé. Lorsque la valeur de t-value du test de student est supérieure à t-table (Voir Annexe D), le facteur est significatif. Plus la valeur est élevée plus le coefficient correspondant est significatif.

La significativité des effets peut aussi être évaluée en fonction de la valeur de p-value où lorsque p-value est inférieure à 5% de risque, le coefficient est significatif [135-137].

D'après les résultats rapportés dans le tableau (5.5) et selon le rendement, il peut être constaté que tous les termes du modèle quadratique complet sont significatifs mais que le terme d'interaction température - diamètre des particules est insignifiant.

Le tableau (5.5) montre que le modèle de régression polynomiale est en bon accord avec les résultats expérimentaux, avec un coefficient de détermination R^2 de 98.13 %, et un coefficient de détermination ajusté et le R^2 prédictif de 94.78 % et 89.10 % respectivement. Dans la présente étude, la valeur de $(R^2_{\text{pred}} - R^2_{\text{adj}}) < 0.20$ et donc pas de problèmes avec les données du modèle [137, 138] d'où une capacité prédictive globale du modèle considérée comme satisfaisante, en se basant sur ce critère.

Une grande valeur de R^2 n'implique pas nécessairement que le modèle de régression est fiable, parce que R^2 augmente toujours à mesure que des termes soient ajoutés au modèle et que la variable supplémentaire soit statistiquement significative ou non. Ainsi, il est possible que les modèles qui ont de grandes valeurs de R^2 donnent de faibles prédictions de nouvelles observations ou des estimations de la réponse moyenne [133].

Pour TPC et TFC, il a été constaté que les valeurs calculées correspondent raisonnablement bien aux valeurs expérimentales avec $R^2 = 95.16$ et 90.06 %, respectivement.

Le R^2 ajusté ($\text{Adj-}R^2$) est également une mesure de la qualité de l'ajustement, mais il convient mieux pour comparer des modèles avec différents nombres de variables indépendantes. Il corrige la valeur R^2 pour la taille de l'échantillon et le nombre de termes dans le modèle en utilisant les degrés de liberté dans ses calculs. S'il y a beaucoup de termes

dans un modèle et que la taille de l'échantillon n'est pas très grande, Adj-R^2 peut être plus petit que R^2 . Dans le cas présent, les valeurs Adj-R^2 sont de 92.61, 86.45 et 72.16 %, respectivement, indiquant un bon accord entre les valeurs expérimentales et calculées du rendement d'extraction d'huile (voir Figure 5.5).

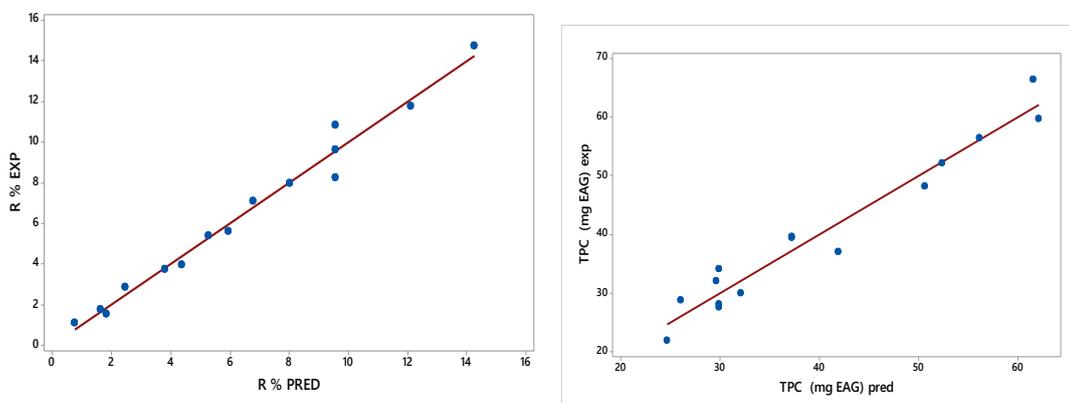


Figure 5.5: Les valeurs expérimentales tracées par rapport aux valeurs prédites dérivées du modèle de rendement (%), TPC (mg GAE/g E) et CI50 ($\mu\text{g/ml}$), pour un temps = 180 min (3 heures).

5.3.1d Optimisation du rendement d'extraction d'huile

L'objectif principal de l'utilisation de la conception expérimentale dans le présent travail est d'obtenir les valeurs optimales des paramètres opératoires permettant d'obtenir une réponse maximale. Par conséquent la condition optimale pour l'extraction par CO_2 supercritique du rendement d'extraction et des composés bioactifs des graines de *Peganum harmala* a été déterminée afin d'obtenir une capacité phénolique, flavonoïde totale maximale des extraits. Les modèles polynomiaux du second ordre développés dans cette étude ont été utilisés pour chaque réponse afin d'obtenir des conditions optimales correspondantes.

L'analyse du modèle de *Peganum harmala* et la résolution statistique technique dans le logiciel Minitab 16, ont donné les valeurs de 300 bar, 55°C et 0.57 mm, respectivement pour la pression, la température et la taille des particules, pour un rendement maximal d'extraction d'huile valeur de 15.0821 %. Ce résultat est assez proche de la valeur expérimentale de 15.00176, démontrant une fois de plus la fiabilité de la méthode adoptée.

Tableau 5.6: Conditions optimales, valeur prédite et expérimentale de la réponse.

Conditions optimales			Rendement %	
d (mm)	T ($^\circ\text{C}$)	P (bar)	Calculée	Expérimentale
0.5727	55	300		

CI ₅₀ (µg/ml)	TPC (mg GAE/g E)	TFC (mg QE/g E)	TTC (mg CE/ g E)	15.0821	15.00176
694.863	40.5227	4.3261	41.9038		

En appliquant la méthodologie, les valeurs optimales pour la TPC sont de 79.04 mg GAE/g E, à une pression d'extraction de 100 bars, une température de 35°C et une taille de particules de 0.9 mm. Cependant pour le TFC, une valeur optimale de 7.10 mg QE/g E a été obtenue à une pression de 170.7 bar mais toujours à une température et une granulométrie de 35°C et 0,9 mm, respectivement.

La surface de réponse tridimensionnelle et les tracés de contours ont été obtenus à partir des résultats de conception de Box-Behnken et sont montrés par les figures suivantes afin de mettre en évidence les principaux effets d'interaction des variables sur le rendement d'extraction d'huile.

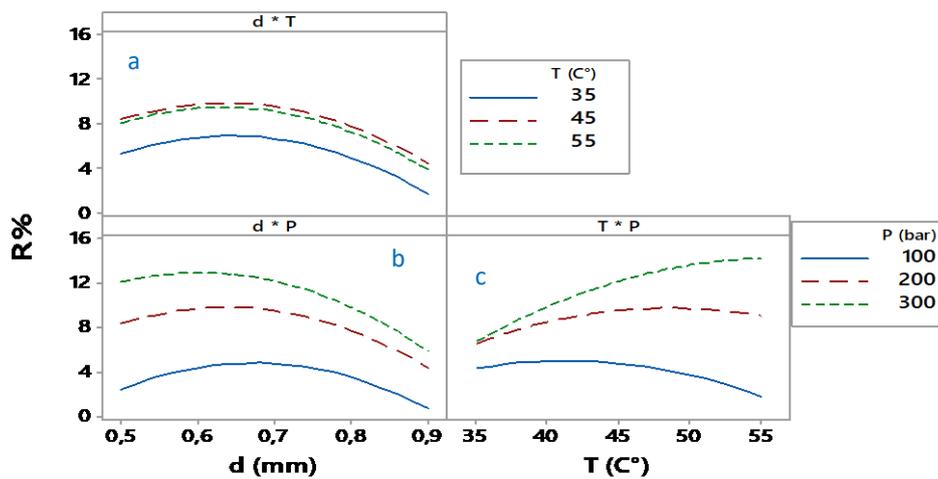
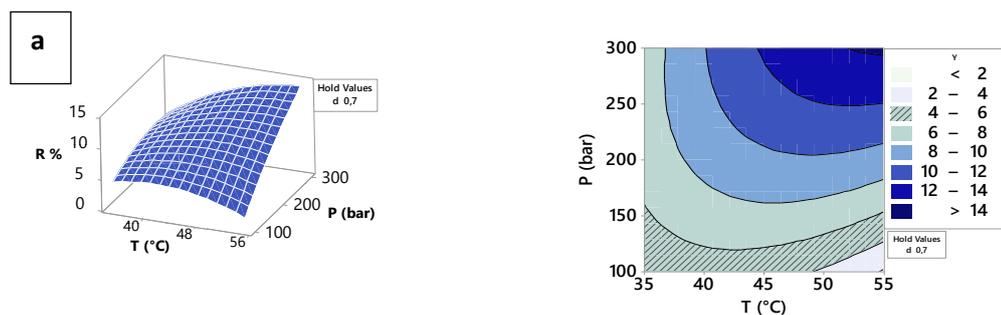


Figure 5.6: Effets d'interaction des variables sur le rendement d'extraction d'huile.



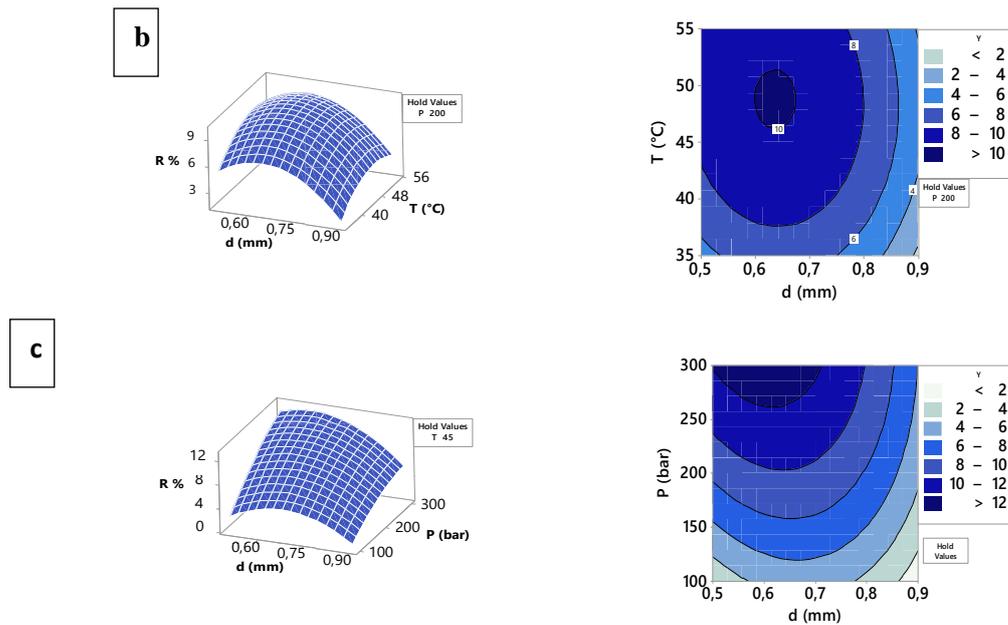


Figure 5.7: La surface de réponse et les tracés de contour du rendement (R %) en fonction de (a) la pression (bar) et la température (°C), (b) le diamètre (mm) et la température (°C) et (c) le diamètre (mm) et Pression (bar).

5.3.1 Effet des paramètres opératoires sur le rendement d'extraction

- **Effet de la pression**

Généralement, une augmentation de pression induit une augmentation significative du rendement d'extraction d'huile. Ceci s'explique par le fait qu'une augmentation de la pression du solvant supercritique entraîne une augmentation du pouvoir solvant et une meilleure solubilité de l'huile dans le solvant, d'où un rendement d'extraction d'huile amélioré. Ceci est bien reproduit par les résultats de la figure (5.8) où, pour une granulométrie fixe de 0.7 mm, les courbes correspondant à la pression la plus élevée de 300 bar sont largement supérieures à celles obtenues à 100 bar et ce aux deux températures de 35 et 55° C.

La courbe montre une évolution de la vitesse d'extraction en augmentant la pression. A température constante et à 100 bars, l'extraction est plus lente et le rendement en extrait est quasi constant sur la durée d'extraction. A une pression plus élevée (300 bar), la masse maximale extraite a principalement eu lieu pendant les vingt premières minutes. A priori, on peut alors conclure qu'en augmentant la pression d'extraction on obtient une meilleure efficacité du solvant.

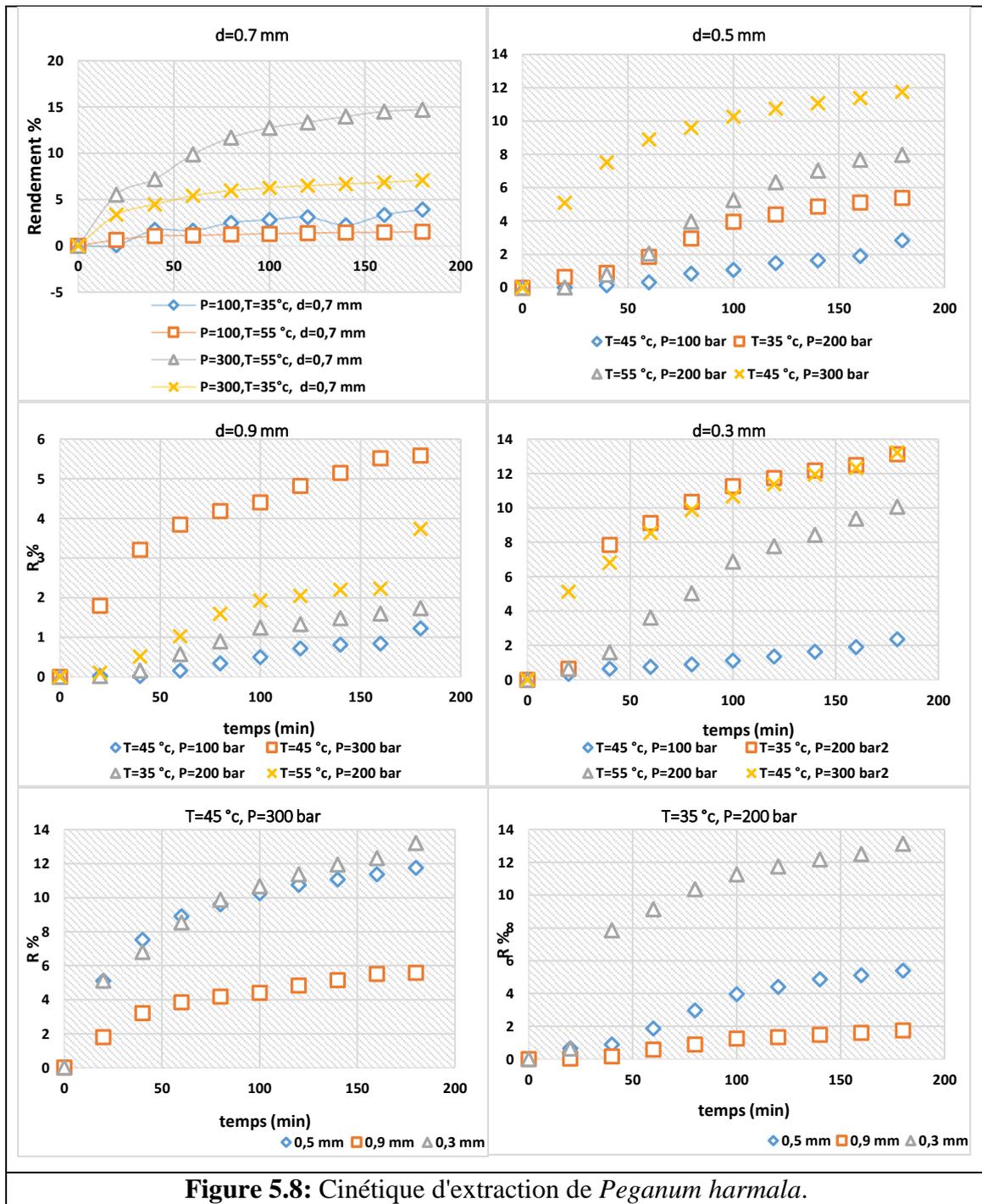


Figure 5.8: Cinétique d'extraction de *Peganum harmala*.

Dans la présente étude, un effet de pression positif sur le rendement d'extraction a été observé puisque l'augmentation de la pression augmenterait la densité du fluide, donc accélérerait le taux de transfert de masse et de diffusion du solvant dans le système et améliorerait les performances d'extraction [8,10].

- **Effet de la température**

La figure (5.9) montre les résultats concernant l'effet de la température sur le rendement d'extraction d'huile. Différents types de variations sont présentés en fonction non

seulement de la température mais aussi des deux autres paramètres, à savoir la taille des particules et la pression. Par exemple pour une granulométrie fixe de 0.7 mm et une pression de 100 bar, le rendement d'extraction d'huile diminue lorsque la température augmente de 35 puis 45 et enfin 55°C, confirmant la tendance générale rapportée dans la littérature où une augmentation de température, conduit à une diminution de l'efficacité d'extraction [11, 12].

Cependant, l'effet inverse peut être observé lorsque la valeur de la pression est beaucoup plus élevée. Par exemple pour une granulométrie toujours de 0.7 mm et à une pression de 300 bars, il est constaté que lorsque la température passe de 35 à 55°C, le rendement d'extraction d'huile augmente significativement, contrairement à la tendance générale. Cela peut s'expliquer par le fait qu'un pouvoir solvant important est acquis par le solvant à haute pression, pouvant amortir et même dépasser l'effet dû à une augmentation de température qui est liée à la pression de vapeur du soluté [140].

Finalement il peut être conclu facilement que l'effet de la température est fortement influencé par l'intensité de la pression, contrairement à l'effet de cette dernière.

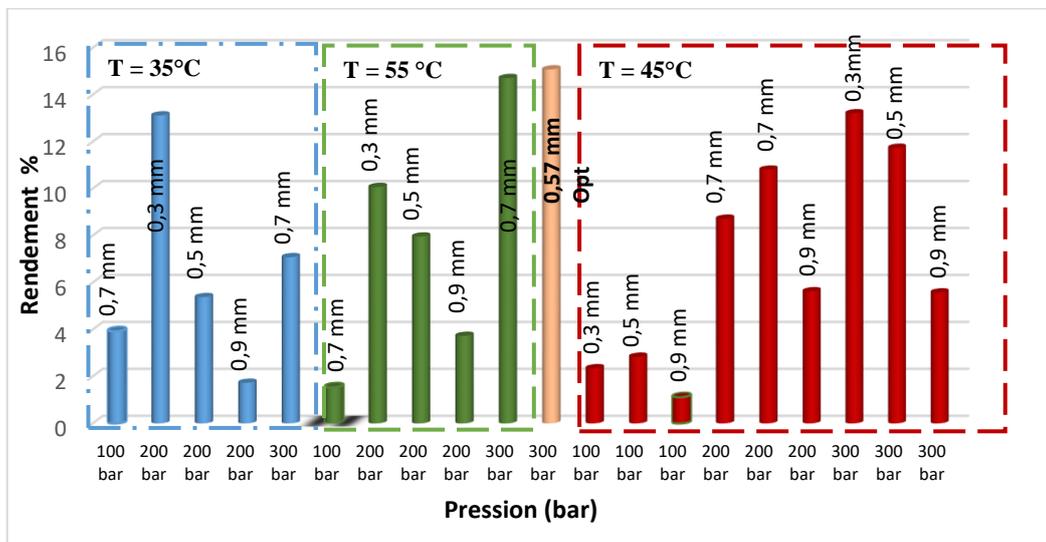


Figure 5.9: Effet de la température sur l'efficacité de l'extraction.

- **Effet de la taille des particules**

Il est clair qu'une petite taille de particule offre plus de surface de transfert de matière qu'une plus grande [140]. Ceci est clairement montré par les résultats de la figure (5.9) où pour une température et une pression données, le rendement le plus élevé correspond à la plus petite granulométrie. Par exemple pour une granulométrie de 0.9 mm, une température de 35°C et une pression de 200 bars, le rendement est de 1.7336 %, tandis que dans les

mêmes conditions mais pour des tailles de particules plus petites de 0.5 et 0.3 mm, les valeurs du rendement d'extraction correspondantes sont de 5.3788 et 13.2114 %, respectivement.

D'après la figure (5.9), il est également intéressant de noter qu'à 35°C, le rendement pour une taille de particule de 0.7 mm et une pression de 100 bars est beaucoup plus élevée que celui pour une taille de particule de 0.9 mm et une pression de 200 bar, double de la première. Cela signifie que l'effet de la taille des particules sur le rendement d'extraction de l'huile peut être plus important que celui dû à la pression; par conséquent, le transfert de matière est dominant par rapport à l'amélioration de la solubilité de l'huile dans le solvant.

L'objectif de la présente étude est non seulement l'optimisation du rendement d'extraction d'huile mais aussi la qualité de l'huile extraite.

- **Extraction par Soxhlet**

Dans cette partie, une méthode traditionnelle, la méthode Soxhlet, a été utilisée, le méthanol a été utilisé comme solvant. C'est un solvant polaire par rapport au CO₂ supercritique. Cette étude vise à évaluer et confirmer l'effet du type de solvant, de la polarité et la méthode d'extraction sur le rendement et la qualité de l'extrait principalement. Les résultats obtenus montrent l'ampleur de la différence. Là où le type de solvant joue un grand rôle dans le processus d'extraction en termes de polarité.

Les résultats obtenus, présentés dans le tableau (5.7), montrent que l'extrait méthanolique caractérisé des valeurs élevées par comparaison pour le cas des extraits supercritiques, avec une teneur de polyphénol de 110.77 ± 0.7 . Cette différence est due au fait que les polyphénols sont des composés polaires, ce qui rend difficile leur extraction avec du dioxyde de carbone qui est apolaire. Cependant, la sélectivité de ces composés peut être modifiée en manipulant la pression d'extraction.

Tableau 5.7: Résultats expérimentaux pour le rendement, TPC, TFC et TTC (par Soxhlet).

Extraits	R %	TPC (mg EAG/g E)	TFC (mg EQ/g E)	TTC (mg EC/ gE)
Extrait avec MtOH	53.997	110.77 ± 0.67	23.94 ± 0.047	1.10 0.38

5.3.2 *Plantago ovata*

5.3.2a Rendement d'extraction

Box Behnken à trois facteurs et basé sur la méthodologie de surface de réponse a été utilisé afin d'optimiser le rendement d'extraction dont l'expression est montrée par l'équation (5.4).

Le modèle mathématique qui représente la réponse (Rendement) en fonction des différentes variables est exprimé comme suit:

$$R \% = 17,98 - 51,05 d (mm) + 0,033 T(^{\circ}c) + 0,0153 P(bar) + 35,57 d (mm) \times d (mm) - 0,00068 T(^{\circ}c) \times T(^{\circ}c) - 0,000082 P(bar) \times P(bar) - 0,0359 d (mm) \times T(^{\circ}c) + 0,00985 d (mm) \times P(bar) + 0,000355 T(^{\circ}c) \times P(bar) \quad (\text{Eq.5.4})$$

Les figures (5.10a & b) montrent la comparaison entre les valeurs expérimentales et les résultats obtenus pour le rendement d'extraction d'huile à partir du *Plantago ovata*, avec une très bonne concordance, d'où la fiabilité de la méthode adoptée. Aussi les figures (5.11 & 5.12) montrent clairement à travers toutes expériences menées, l'influence des paramètres opératoires sur le rendement d'extraction dans l'intervalle de pression considéré de [200-300 bars].

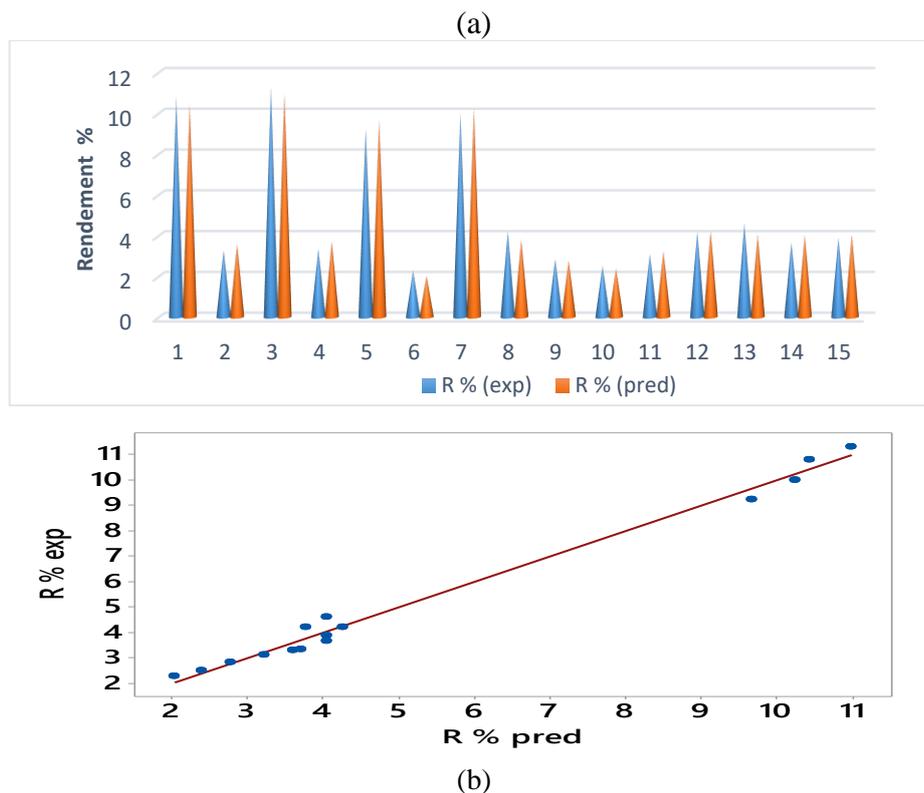


Figure 5.10: Comparaison des valeurs expérimentales et calculées du rendement d'extraction d'huile du *Plantago ovata* par CO₂ supercritique.

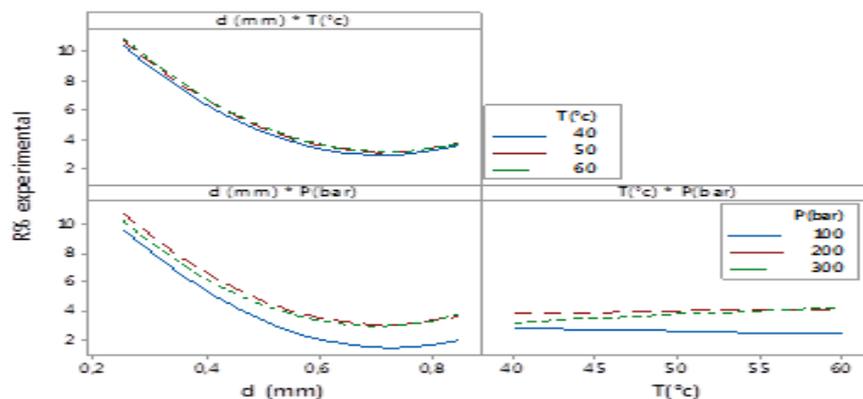


Figure 5.11: Effets d'interaction des variables sur le rendement d'extraction d'huile.

Selon une température, et lors de la fixation du diamètre, il semble n'avoir aucun effet significatif sur la réponse dans la gamme de pression [200-300 bar], figure (5.11). Cependant, contrairement à la pression, elle a un effet notable lorsqu'elle est portée à 300 bars, et on remarque qu'elle n'est pratiquement pas affectée dans la plage de [200 à 300 bars]. D'une manière générale, l'amélioration de la performance d'un processus d'extraction s'explique par le fait que l'augmentation de la pression du solvant supercritique conduit à un meilleur pouvoir solvant d'où une meilleure solubilité du soluté dans le solvant [1, 2] et implicitement un meilleur rendement d'extraction. Ceci est clairement mis en évidence dans les résultats présentés sur la figure (5.10).

Cependant, lorsque la température varie entre 40 et 60°C, le rendement semble décroître à 100 bars avec l'augmentation de la température et prend des valeurs pratiquement constantes à une pression de 300 bars, ne montrant aucun effet significatif. Pour une plage de température dans l'intervalle [55 - 60°C] et une pression dans [200 à 300 bar], aucun effet significatif sur le rendement, n'a été constaté.

D'après les résultats présentés dans les figures (5.11 & 5.12), il apparaît que le rendement le plus élevé correspond à la petite taille de particules de 0.25 mm avec une valeur de 11.3 enregistrée à 60°C et 200 bar, caractérisée donc par une grande zone de transfert de matière [16]. Dans l'intervalle de tailles de particules de [0.55-0.85mm], aucun effet significatif sur le rendement d'extraction, n'a été observé.

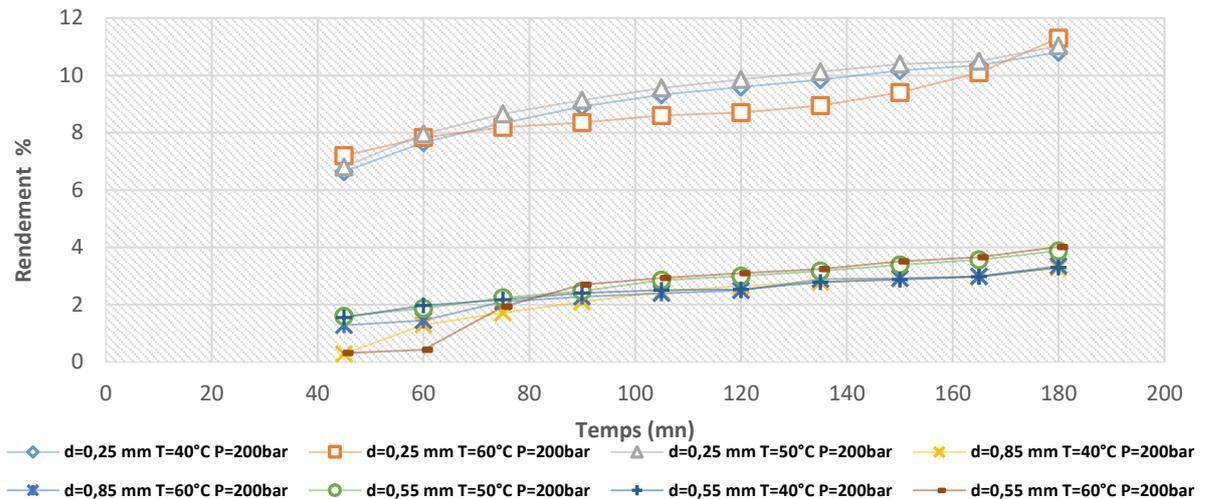


Figure 5.12: Cinétique d'extraction de *Plantago ovata*.

La figure (5.12) montre la cinétique d'extraction de *Plantago ovata* où il peut être constaté que la taille des particules est le facteur influent dans cette étude, contrairement à la pression et à la température, dont l'effet est presque négligeable sur l'efficacité de l'extraction. La plus petite taille de particule a donné le rendement d'extrait le plus élevé.

5.3.2b Analyse quantitative des extraits *Plantago ovata* préparés

Les réponses des polyphénols, des flavonoïdes et des tanins condensés sont représentées en fonction des variables considérées (diamètre, température et pression) par les équations (5.5, 5.6 et 5.7), respectivement.

$$TPC = 362,7 - 88,8 d - 4,60 T - 1,449 P + 83,1 d * d + 0,0073 T * T + 0,000893 P * P - 2,842 d * T + 0,5300 d * P + 0,01874 T * P \quad (\text{Eq.5.5})$$

$$TFC = -17,63 + 2,89 d + 0,636 T + 0,0309 P - 4,31 d * d - 0,00651 T * T - 0,000083 P * P + 0,0303 d * T + 0,00931 d * P - 0,000029 T * P \quad (\text{Eq.5.6})$$

$$TTC = 688 - 256 d - 11,3 T - 2,386 P - 47 d * d - 0,013 T * T - 0,00015 P * P + 3,70 d * T + 0,161 d * P + 0,04858 T * P \quad (\text{Eq.5.7})$$

La teneur en polyphénols des extraits de graines de *Plantago* a été examinée et les résultats sont présentés dans les tableaux (5.8 & 5.9). Les différents systèmes d'extraction des deux méthodes utilisées ont montré une large gamme de concentrations de polyphénols, de 1.14 ± 0.10 à 80.29 ± 1.86 (GAE)/g d'extrait.

- **Dosage des polyphénols totaux**

La détermination de la teneur en phénols totaux dans les extraits de graines de *Plantago ovata* est estimée par la méthode de Folin-Ciocalteu [124] qui est basée sur la

réduction en milieu alcalin du mélange phosphotungstique (WO₄²⁻) phosphomolybdique (MoO₄²⁻) du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques, conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleue. Ces derniers présentent un maximum d'absorption à 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon. Les teneurs ont été rapportées en mg équivalent d'acide gallique/g d'extrait de matériel végétal (0–200 µg/ml, $y = 0.0044x$, $R^2 = 0.9913$).

Les résultats ont montré que la faible teneur moyenne en phénols totaux de l'extrait supercritique est de (1.14 ± 0.10 mg GAE/g) dans les conditions de 0.55 mm, 60°C et 300 bar et où valeur élevée a été enregistrée (80.29 ± 1.86 mg GAE/g) à 0.85 mm, 50°C et 300 bar. Alors que l'extrait au méthanol a enregistré la valeur (136.6 ± 0.56 et 147.79 ± 0.45 mg GAE/g selon le diamètre allant de 0.25 et 0.55 mm respectivement).

Ces résultats montrent clairement l'effet de la polarité sur le pouvoir solvant (solubilité), car il a été observé que l'extrait méthanolique enregistrerait la valeur la plus élevée pour la teneur en phénol total par rapport aux extraits supercritiques où le dioxyde de carbone était utilisé comme solvant. Ce dernier est un solvant apolaire, ce qui explique la différence de teneur en polyphénols.

- **Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïdes a été quantifiée par la méthode au trichlorure d'aluminium (AlCl₃) pour chaque extrait (0-70 µg/ml, $y = 0.0372x - 0.0788$, $R^2 = 0.9963$).

Pour les extraits supercritiques, les résultats du dosage des flavonoïdes ont donné des valeurs comprises entre 0.736 ± 0.002 à 2.825 ± 0.003 mg QE/g d'extrait, à différentes conditions de diamètre, de température et de pression. De ces valeurs, il peut être déduit que les flavonoïdes représentent la plus faible teneur par rapport aux phénols totaux dans les extraits supercritiques, alors que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait méthanolique est de 4.25 ± 0.053 et 2.57 ± 0.87 mg QE/g correspondant aux diamètres de 0.25 et 0.55 mm, respectivement).

- **Dosage des tanins condensés**

La teneur totale en tanins condensés a été réalisée par la méthode à la vanilline acidifiée (0-300 µg/ml, $y = 0.0026x + 0.0301$, $R^2 = 0.9944$). Les résultats du test au tanin ont montré des valeurs allant de (2.288 ± 0.48 à 121.756 ± 4.07) mg TAE/gE selon les conditions opératoires de diamètre, température et pression des extraits supercritiques. Alors

que la teneur en tanin dans l'extrait méthanolique a enregistré une valeur de 51.79 ± 0.38 et 43.38 ± 0.87 mg CE/g selon le diamètre de 0.25 ou 0.55, mm respectivement)

Ces résultats ont montré que la teneur en composés phénoliques, en flavonoïdes et en tanins condensés est plus élevée dans l'extrait méthanoïque que dans les extraits supercritiques.

Tableau 5.8: Résultats expérimentaux et calculés pour TPC, TFC et TTC.

	d mm	T °C	P bar	TPC (mg GAE/g E)		TFC (mg QE/g E)		TTC(mg CE/ gE)	
				Exp.	Calc.	Exp.	Calc.	Exp.	Calc.
1	0.25	40	200	66.90 ± 1.37	67.5212	1.141 ± 0.009	1.24387	105.666 ± 3.69	94.521
2	0.85	40	200	60.84 ± 0.43	64.4863	2.223 ± 0.0016	1.97563	20.269 ± 3.53	23.090
3	0.25	60	200	54.66 ± 0.99	51.0137	0.736 ± 0.002	0.98337	57.403 ± 2.03	54.582
4	0.85	60	200	14.5 ± 0.78	13.8788	2.182 ± 0.005	2.07912	16.384 ± 1.60	25.029
5	0.25	50	100	66.36 ± 1.18	69.6787	1.093 ± 0.003	1.07950	57.237 ± 2.62	74.623
6	0.85	50	100	17.5 ± 0.17	17.7937	1.098 ± 0.001	1.43475	2.288 ± 0.48	10.708
7	0.25	50	300	65.55 ± 0.44	65.2562	1.123 ± 0.002	0.78625	87.448 ± 2.12	79.028
8	0.85	50	300	80.29 ± 1.86	76.9712	2.245 ± 0.006	2.25850	51.846 ± 1.06	29.460
9	0.55	40	100	76.45 ± 0.52	72.5100	1.094 ± 0.001	1.00463	111.756 ± 4.07	103.015
10	0.55	60	100	1.14 ± 0.10	1.4675	1.218 ± 0.21	0.98413	5.173 ± 1.6	-14.392
11	0.55	40	300	62.73 ± 3.28	62.4025	1.094 ± 0.003	1.32788	2.871 ± 0.55	22.436
12	0.55	60	300	62.39 ± 1.86	66.3300	1.102 ± 0.001	1.19138	90.602 ± 3.55	101.843
13	0.55	50	200	40.05 ± 1.36	41.0133	2.722 ± 0.007	2.60967	44.846 ± 0.74	55.431
14	0.55	50	200	43.88 ± 0.94	41.0133	2.825 ± 0.003	2.60967	54.722 ± 1.53	55.431
15	0.55	50	200	39.11 ± 0.26	41.0133	2.282 ± 0.012	2.60967	66.724 ± 1.49	55.431
16	0.25	60	239	35.38 ± 0.66	-	2.726 ± 0.01	-	20.023 ± 1.45	-

- **Extraction par Soxhlet**

L'étude a également montré que la méthode d'extraction et le type de solvant ont une influence sur la sélectivité de l'extraction (Tableau 5.9).

Par rapport à l'utilisation du méthanol comme solvant dans la méthode traditionnelle et du dioxyde de carbone supercritique dans la méthode non conventionnelle, la valeur la plus élevée de polyphénols a été enregistrée dans le solvant polaire (Méthanol), car ce dernier est un solvant polaire d'où la bonne affinité avec les composés phénoliques qui sont aussi polaires, contrairement dans le dioxyde de carbone qui est apolaire, ce qui explique cette différence.

La préparation des échantillons et l'élimination des matériaux indésirables pour une quantification précise des composés phénoliques sont importantes, mais la procédure d'extraction est le facteur principal déterminant la performance de la séparation et de la récupération des phénols. D'une manière générale l'extraction est influencée par la nature de

l'échantillon, la taille des particules, le type de solvant, ainsi que les techniques d'extraction utilisées.

Tableau 5.9: Résultats expérimentaux pour le rendement, TPC, TFC et TTC.

	Rendement%	TPC (mg GAE/g E)	TFC (mg QE/g E)	TTC (mg CE/ gE)
Extrait M-OH (d=0.55 mm)	6.870	149.8 ± 0.45	4.25 ± 0.054	43.38 ± 0.87
Extrait M-OH (d=0.25 mm)	16.84	136.60 ± 0.56	2.57 ± 0.87	51,79 ± 0,38

5.3.2c Analyse de la variance

- **Rendement d'extraction**

D'après les résultats montrés dans le tableau (5.10), utilisant le critère de Student et comparant avec p-value, il est constaté que pour les coefficients linéaires, seuls le diamètre et la pression ont des effets significatifs par rapport à la t -table égale à 2.57 (t-values (-18.33 et 2.99) pour les deux facteurs, respectivement [145, 146]). Le diamètre a montré un effet plus important que celui de la pression et le signe négatif du module indique un effet négatif, ce qui conduit à une diminution du rendement en huile lorsque le diamètre est augmenté. Quant à la température, c'est un facteur insignifiant.

Pour les coefficients d'interaction, ils représentent des effets non significatifs, contrairement aux coefficients quadratiques (la pression et la taille des particules), les seuls à présenter un effet significatif

- **Polyphénols, flavonoïdes et tanins**

Tableau 5.10: Analyse des résultats de la variance pour les modèles quadratiques.

Source	Rendement %		TPC (mg GAE/g E)		TFC (mg QE/g E)		TTC(mg CE/ gE)	
	F-Value	P-Value	F-Value	P-Value	F-Value	P-Value	F-Value	P-Value
Model	54.61	0.000	45.89	0.000	5.29	0.041	5.05	0.045
Linear	115.23	0.000	81.17	0.000	4.59	0.067	6.15	0.039
D	336.01	0.000	43.10	0.001	12.60	0.016	15.72	0.011
T	0.72	0.435	120.32	0.000	0.09	0.773	1.68	0.251
P	8.96	0.030	80.08	0.000	1.06	0.350	1.06	0.351
Square	47.59	0.000	8.31	0.022	10.39	0.014	0.07	0.976
d*d	127.83	0.000	11.04	0.021	4.20	0.096	0.17	0.694
T*T	0.06	0.820	0.11	0.758	11.81	0.019	0.02	0.902
P*P	8.35	0.034	15.74	0.011	19.28	0.007	0.02	0.885
2-Way Interaction	1.01	0.461	48.21	0.000	0.88	0.512	8.93	0.019
d*T	0.16	0.708	15.53	0.011	0.25	0.638	1.32	0.303
d*P	1.18	0.327	54.02	0.001	2.35	0.186	0.25	0.638

T*P	1.70	0.249	75.07	0.000	0.03	0.880	25.22	0.004
	R² = 98.99% R²(adj) = 97.18%		R² = 98.80% R²(adj) = 96.65%		R² = 90.49% R²(adj) = 73.37%		R² = 90.09% R²(adj) = 72.25%	

Le test F permet alors de comparer, pour un risque fixé à l'avance, le F_{obs} (F -value) obtenue dans le tableau (5.10) avec un F_{crit} , tiré du tableau Fisher-Snedecor avec $(p - 1)$ et $(n - p)$ degrés de liberté.

Pour un risque α choisi, la règle du test est:

- Si $F_{obs} < F_{crit}$, l'hypothèse de linéarité du modèle est rejetée;
- Si $F_{obs} > F_{crit}$, l'hypothèse de linéarité du modèle avec une confiance $1 - \alpha$, est acceptée.

Le tableau (5.10) montre que, pour les modèles obtenus, les valeurs de F_{obs} correspondantes, le rendement, TPC, TFC et TCC, qui sont respectivement égaux à 54.61, 45.89, 5.29 et 5.05 sont supérieures à la valeur tabulée de 4.77 de F .

Le modèle a enregistré des valeurs R^2 supérieures à 90 % pour toutes les réponses étudiées.

La figure (5.13) montre le nuage de points du rendement expérimental, TPC, TFC et TCC en fonction des réponses estimées qui sont adjacentes à la première bissectrice indiquant que les deux valeurs sont très proches. En utilisant des outils classiques de régression linéaire multiple, la qualité d'ajustement du modèle peut être appréciée. En effet les coefficients de détermination et de détermination ajustée sont une mesure couramment utilisée pour exprimer la qualité de l'ajustement fourni par l'équation de régression.

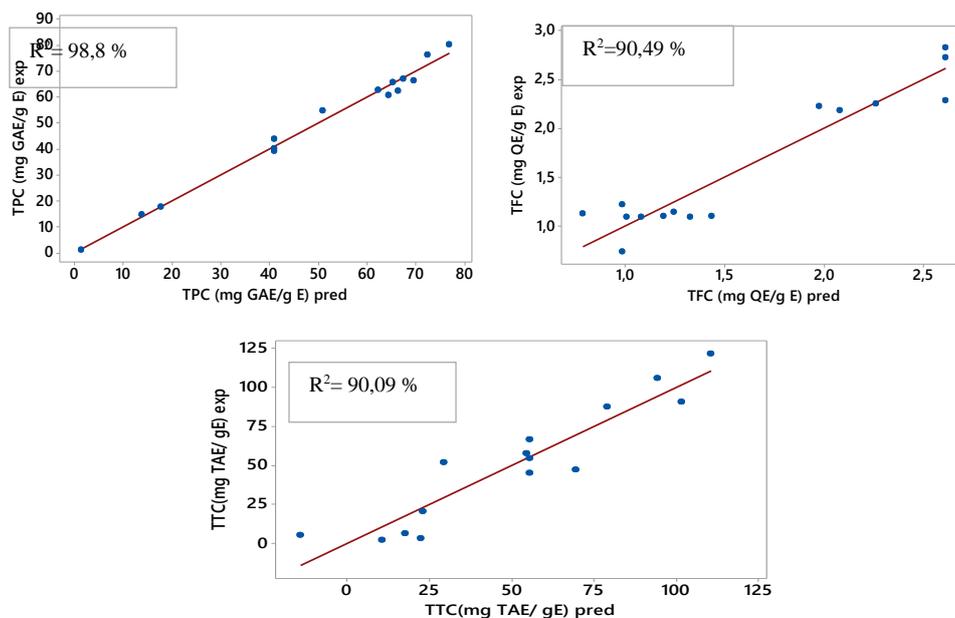


Figure 5.13 : Comparaisons des valeurs expérimentales et calculées par le modèle pour TPC (mg GAE/g E), TFC (mg QE/g E) et TCC (mg CE/g E), pour le temps 180 min.

La figure (5.13) montre que les modèles de régression polynomiale sont en bon accord avec les valeurs expérimentales, avec des coefficients de détermination R^2 de 98.99 ; 98.80 ; 90.49 et 90.09 % et de détermination ajustée de 97.18 ; 96.95 ; 73.37 et 72.25 %, respectivement.

D'après les résultats du tableau (5.10), on peut voir que tous les termes du modèle du modèle étaient significatifs, sauf que le terme quadratique température n'était pas significatif par rapport à TPC (valeur de $p > 0,05$).

5.3.2d Optimisation du rendement d'extraction d'huile

Une condition optimale pour l'extraction au CO_2 supercritique du rendement d'extraction et des composés bioactifs des graines de *Plantago ovata* a été déterminée afin d'obtenir une capacité totale maximale en phénols, en flavonoïdes et en tanins condensés des extraits (Tableau 5.11). Les modèles polynomiaux du second ordre développés dans cette étude ont été utilisés pour chaque réponse afin d'obtenir des conditions optimales ciblées.

L'analyse du modèle *Plantago ovata* et la résolution statistique technique dans le logiciel *Minitab 16* ont fourni les valeurs de 239 bars, 60 °C et 0.25 mm, pour la pression, la température et la taille des particules, respectivement, pour une valeur maximale de rendement d'extraction d'huile de 11.109 %. Ce résultat est assez proche de la valeur expérimentale de 11.053%, démontrant une fois de plus la fiabilité de la méthode adoptée.

En appliquant la méthodologie, les valeurs optimales pour le TPC et le TTC sont de 97.41 mg GAE/g E et 141.87 mg CE/g E, respectivement à une pression d'extraction de 100 bar, une température de 40° C et une granulométrie de 0.25 mm pour le TPC et TCC. Cependant pour le TFC, une valeur optimale de 2.77.10 mg QE/g E a été obtenue à une pression de 219 bars, une température de 35°C et une granulométrie de 0.75 mm.

Tableau 5.11: Conditions optimales, valeur prédite de la réponse.

Réponse	Rendement %	TPC (mg GAE/g E)	TFC (mg QE/g E)	TTC (mg CE/ gE)
		11.109	97.41	2.77
Diamètre (mm)	0.25	0.25	0.75	0.25
Température (°c)	60	40	50	40
Pression (bar)	239	100	219	100

Les surfaces de réponse tridimensionnelles et les tracés des contours ont été obtenus à partir des résultats de conception de Box-Behnken, comme présenté dans la figure (5.14) afin d'illustrer les principaux effets d'interaction des variables sur les performances de

l'extraction de l'huile, où le diamètre a montré le plus grand effet sur le rendement d'extraction.

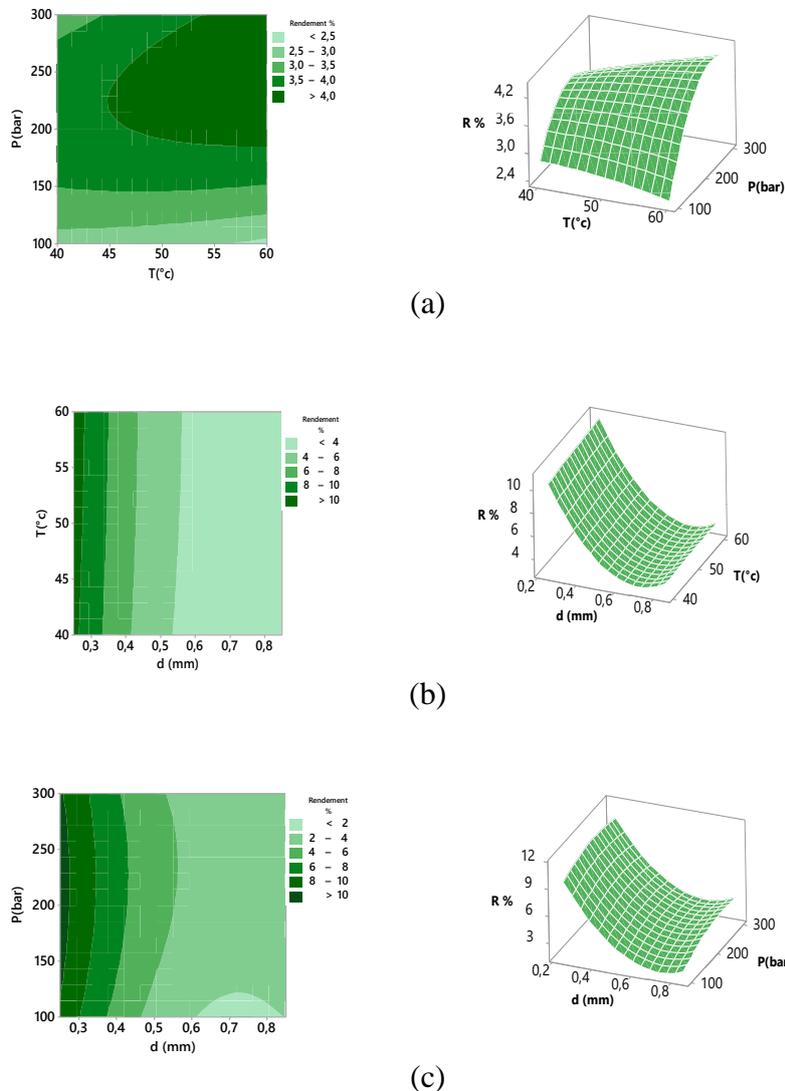


Figure 5.14: Les surfaces de réponse et les tracés de contour du rendement (R %) en fonction de (a) la pression (bar) et la température (°C), (b) la taille des particules (mm) et la température (°C) et (c) la taille des particules (mm) et Pression (bar).

Il existe des limites au processus supercritique, telles que celles liées à la polarité du dioxyde de carbone. En tant que solvant de faible polarité, le dioxyde de carbone est plus adapté à l'extraction de composés non polaires. Cependant, son application peut être étendue à d'autres groupes de composés en introduisant une faible proportion de solvants organiques polaires dans le procédé d'extraction pour permettre l'extraction de composés polaires tels que les polyphénols.

5.3.2 Effet des paramètres opératoires

La figure (5.15) montre bien l'effet des différents paramètres opératoires sur les TPC, TFC et TTC pour des extraits obtenus par extraction par CO₂ supercritique à partir des graines de *Plantago ovata*.

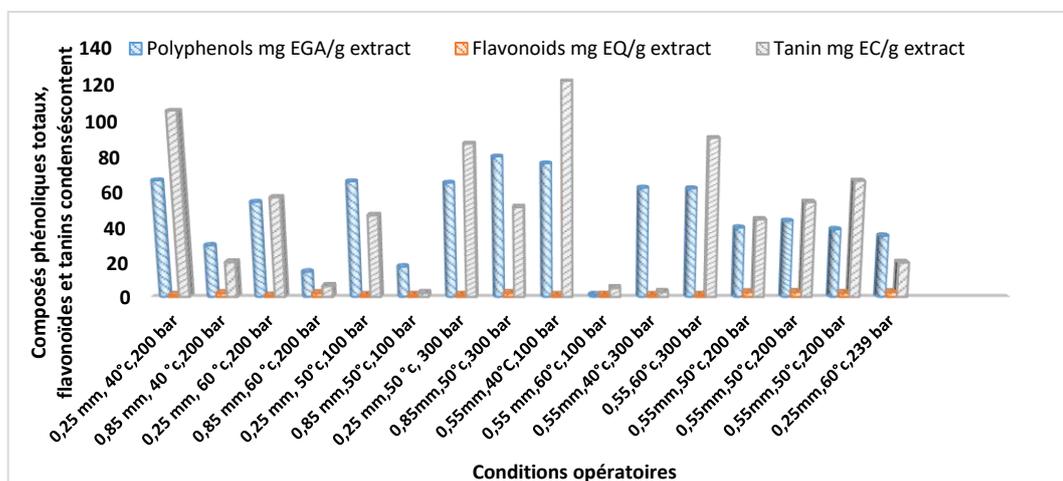


Figure 5.15: Effet des paramètres opératoires sur les TPC, TFC et TTC des extraits supercritiques de graines de *Plantago ovata*.

D'après ces résultats, il peut être conclu que l'effet sur la teneur en polyphénols dépend des différentes conditions opératoires. En effet pour des diamètres de 0.25 et 0.85 mm et dans une certaine gamme de température et de pression, il a été observé que la teneur totale en phénol diminue avec l'élévation de température à une pression inférieure ou égale à 200 bars, et augmente lorsque le diamètre diminue. Par exemple, pour une température de 40°C et une pression de 200 bars, la teneur en polyphénols est plus élevée à d = 0.25 mm qu'à d = 0.85 mm. Le même résultat est observé lorsque la pression est réduite à 100 bars à une température de 50°C. Par contre dans le cas où la pression atteint 300 bars, la teneur en polyphénols pour 0.85 mm est supérieure à celle pour 0.25 mm. En d'autres termes l'effet de la température dépend de la valeur de la pression. La présente étude a montré que la température affecte négativement la teneur en phénol total lorsque la pression est inférieure à 200 bars. Le même résultat a été observé concernant la teneur en tanins condensés où le diamètre s'est aussi avéré comme un facteur très important.

5.4 Activités biologiques

5.4.1 Peganum *harmala*

5.4.1a Activité de piégeage des radicaux DPPH

- **Extraction par CO₂ supercritique**

Le test DPPH est l'un des plus utilisés pour déterminer l'activité antiradicalaire des extraits de plantes naturelles. Dans ce test, l'acide ascorbique a été utilisé comme standard (l'annexe C (figure 4C)). Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (5.12).

La concentration médiane inhibitrice (CI₅₀) est inversement proportionnelle à la capacité antioxydante d'un composé, car elle exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour diminuer la concentration du radical libre de 50 %. Plus la valeur CI₅₀ est faible et plus l'activité antioxydante d'un composé est élevée.

L'équation de régression en unité non codées pour l'CI₅₀ a été développée et a exprimée respectivement par l'équation (5.8). Les résultats obtenus à partir de ces expressions sont présentés dans le tableau (5.12).

$$CI_{50} = 2245 - 207 d - 90.6 T + 2.89 P - 2034 d^2 + 0.741 T^2 - 0.00742 P^2 + 53.52 dT + 2,449 dP - 0,0284 TP \quad (\text{Eq.5.8})$$

Selon les résultats obtenus, les trois paramètres ont montré un effet significatif sur l'activité antioxydante d'huiles extraites. Une diminution significative de l'activité peut être notée à la pression et à la température les plus élevées de 300 bar et 55 °C, respectivement, et avec la plus petite taille de particules de 0.5 mm.

De plus, une température élevée peut affecter les composés thermosensibles (thermolabiles), pouvant induire leur décomposition, ce qui explique la faible activité résultant dans l'huile.

Tableau 5.12 : Valeurs de concentration inhibitrice médiane (CI₅₀) obtenues avec des extraits de graines de *Peganum harmala* par CO₂ supercritique.

	D mm	T °C	P bar	CI₅₀ (µg/ml)	
				expérimentale	prédite
1	0.5	35	200	639.03	635.53
2	0.9	35	200	383.24	359.31
3	0.5	55	200	556.04	579.98
4	0.9	55	200	728.42	731.92
5	0.5	45	100	471.63	472.93
6	0.9	45	100	291.08	312.82
7	0.5	45	300	467.74	446.01
8	0.9	45	300	483.14	481.83
9	0.7	35	100	438.44	440.64
10	0.7	55	100	681.26	656.02
11	0.7	35	300	543.29	568.53
12	0.7	55	300	672.41	670.21
13	0.7	45	200	553.08	583.92

14	0.7	45	200	614.68	583.92
15	0.7	45	200	584.00	583.92

L'analyse statistique du modèle et les résultats sont présentés dans l'Annexe (D, Tableau 4).

La valeur F obtenues pour le rendement, CI_{50} est 18,57 et supérieure au F tabulé (pour le risque 0.05, $F_{0,05}(9, 5) = 4.77$). Il a été également constaté que les valeurs calculées correspondent raisonnablement bien aux valeurs expérimentales avec $R^2 = 97.36\%$ et R^2 ajusté (Adj- R^2) est également 92.61 %, indiquant un bon accord entre les valeurs expérimentales et calculées du rendement d'extraction d'huile. Par conséquent, il peut être confirmé que le modèle est assez fiable pour la prédiction des résultats expérimentaux.

D'après les résultats rapportés dans le tableau (l'Annexe (D, Tableau 4) il peut être constaté que tous les termes du modèle quadratique complet sont significatifs mais que le terme d'interaction température - pression est insignifiant.

La valeur optimale est de 172.99 $\mu\text{g/mL}$ à une pression d'extraction de 100 bar, une température de 35°C et une taille de particules de 0.9 mm.

La surface de réponse tridimensionnelle et les tracés de contours ont été obtenus à partir des résultats de conception de Box-Behnken et sont montrés par la figure (5.17) afin de mettre en évidence les principaux effets d'interaction des variables sur la concentration d'inhibitrice médiane

En particulier en ce qui concerne les paramètres CI_{50} et TPC. Par conséquent, à partir des courbes de réponse de surface et de contour de CI_{50} et TPC présentées dans la figure (5.16) et la figure (5.17), une corrélation claire montrant une relation inverse entre CI_{50} et la teneur en polyphénols peut être bien observée. Plus le TPC est élevé, plus la concentration d'inhibition est faible, d'où une activité antioxydante élevée.

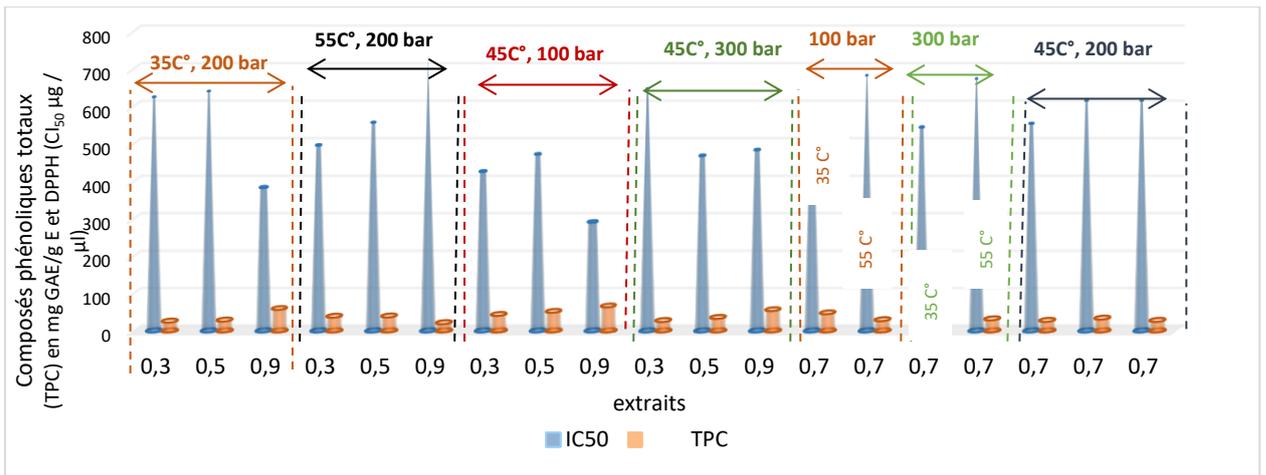
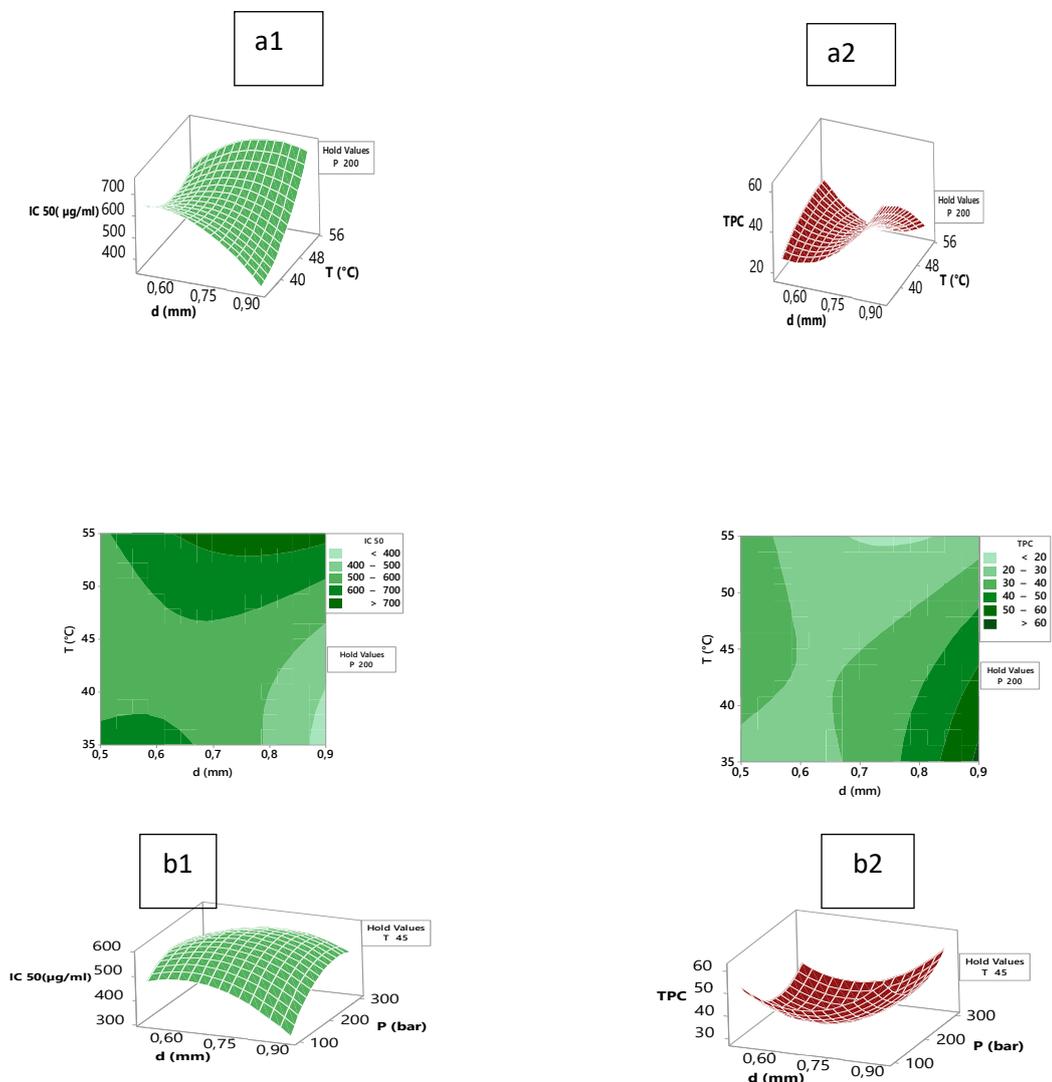


Figure 5.16: Variations de TPC et DPPH (CI₅₀ µg/µl) des extraits de *Peganum Harmala*.



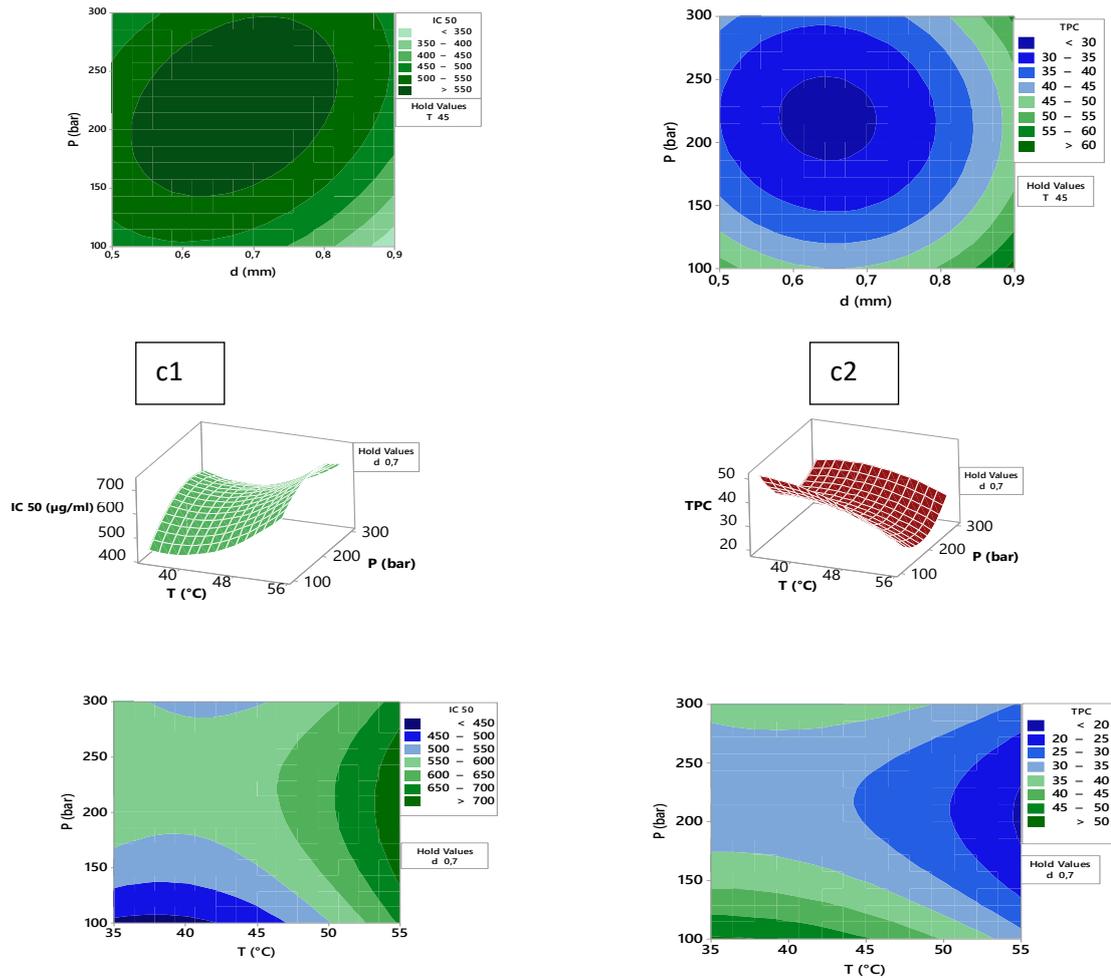


Figure 5.17: Les surface de réponse et de contour de CI_{50} et TPC en fonction de (a) diamètre (mm) et température ($^{\circ}C$), (b) diamètre (mm) et Pression (bar) et (c) Température ($^{\circ}C$) et Pression (bar).

- **Extraction par Soxhlet**

Les résultats obtenus, présentés dans le tableau (5.13), montrent que l'extrait méthanolique caractérisé une valeur d'inhibition élevée de 90.37 $\mu g/ml$ par comparaison pour le cas des extraits supercritiques, avec des valeurs supérieures à 250 $\mu g/ml$ (tableau 5.12),

Tableau 5.13: Résultat expérimentale pour CI_{50} , (par Soxhlet).

Extraits	CI_{50} ($\mu g/ml$)
Extrait avec MtOH	90.37

5.4.1b Activité Antimicrobienne

A. Activité antibactérienne

Les résultats du dépistage de l'activité antibactérienne des extraits sélectionnés sont présentés dans le tableau (5.14) et la figure (5.18) où les quinze extraits examinés ont tous montré un effet antibactérien au moins contre l'une des souches bactériennes sélectionnées, à l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* contre laquelle aucune activité n'a été enregistrée par aucun extrait. Cela peut être dû à la présence d'une double membrane entourant chaque cellule bactérienne et qui empêche certains médicaments et antibiotiques de pénétrer dans la cellule, expliquant en partie pourquoi les bactéries à Gram-négatives sont généralement plus résistantes aux antibiotiques que les autres bactéries à Gram-positives. *Staphylococcus aureus* avec 85.71 %, *Bacillus subtilis* avec 92.86 %, *Escherichia coli* avec 28.57 %, figure (5.19).

La sensibilité aux différents extraits est organisée selon le diamètre des zones d'inhibition comme suit: non sensible (-) pour le diamètre moins sensible de 6 mm; sensible (+) pour un diamètre entre 9-14 mm ; très sensible (+ +) pour un diamètre entre 15-19 mm et extrêmement sensible (+++) pour le diamètre plus que 20 mm [133].

Les résultats obtenus à partir de la méthode utilisée ont montré que les extraits purs du *Peganum harmala* possèdent une activité antibactérienne contre les micro-organismes sélectionnés. Cependant il faudrait mentionner que la sensibilité des souches testées varie selon les conditions opératoires utilisées.

La sensibilité des microorganismes peut varier selon le germe testé car une huile peut être bactéricide vis-à-vis de certaines souches, bactériostatique vis-à-vis d'autres ou n'avoir aucun effet.

L'effet le plus puissant lié à l'extrait de méthanol inhibe *Staphylococcus aureus* avec un diamètre de zone d'inhibition de 32 mm, *Bacillus subtilis* avec 30 mm, *Escherichia coli* avec 40 mm et *Pseudomonas aeruginosa* avec 22 mm.

Tableau 5.14 : Test de sensibilité de différents extraits de *Peganum harmala* vis-à-vis des micro-organismes tests (mm) (activité antibactérienne).

	d mm	T °C	P bar	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)

1	0.5	35	200	14	10.5	13	-
2	0.9	35	200	11	10.5	-	-
3	0.5	55	200	-	-	-	-
4	0.9	55	200	13	-	12.5	-
5	0.5	45	100	9	8.5	-	-
6	0.9	45	100	-	-	-	-
7	0.5	45	300	8		9	-
8	0.9	45	300	-	12	-	-
9	0.7	35	100	12.5	-	-	-
10	0.7	55	100	-	-	-	-
11	0.7	35	300	-	8.5	-	-
12	0.7	55	300	13	8.5	-	-
13	0.7	45	200	9.5	11.5	11.5	-
14	0.57	55	300	8.5	9.5	-	-
Soxhlet				32	30	40	22

La présente étude a été menée pour étudier l'activité antibactérienne *in vitro* des graines de *Peganum harmala* afin d'évaluer leur application scientifiquement. Cependant, les extraits diffèrent significativement dans leur activité contre les micro-organismes testés, où pratiquement la majorité ont été actifs contre au moins une des souches à Gram-positives et négatives. Le groupe de bactéries les plus sensibles a été celui des souches à Gram positives, parmi lesquelles *Bacillus subtilis* et *Staphylococcus aureus* qui provoquent des infections graves chez l'homme et d'autres animaux, notamment des lésions cutanées superficielles, des abcès localisés et des intoxications alimentaires [148]. En raison de l'importance de *Staphylococcus aureus* dans les conditions mentionnées ci-dessus, les extraits à 35 °C et 200 bar avec 0.5 mm ont montré une valeur élevée par rapport aux autres, avec une inhibition de 14 mm. L'une des bactéries les moins sensibles est *Escherichia coli*.

Le mécanisme d'action des huiles est lié essentiellement à la structure de la paroi et à la perméabilité membranaire des bactéries. L'huile exerce son pouvoir antimicrobien par son interférence avec la bicouche lipidique de la bactérie grâce à sa propriété hydrophobe, ce qui entraîne une augmentation de la perméabilité puis une perte des constituants cellulaires, l'acidification de l'intérieure de la bactérie, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure et la destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie [149].

En revanche, les bactéries à Gram- sont plus résistantes que les Gram+, dû aux différences structurales de leurs membranes externes. Ils possèdent une membrane externe entourant la paroi cellulaire qui limite la diffusion des composés hydrophobes à travers son

revêtement *lipopolysaccharidique*. Cependant, toutes les études sur l'huile n'ont pas conclu que les gram-positifs sont plus sensibles.[149].

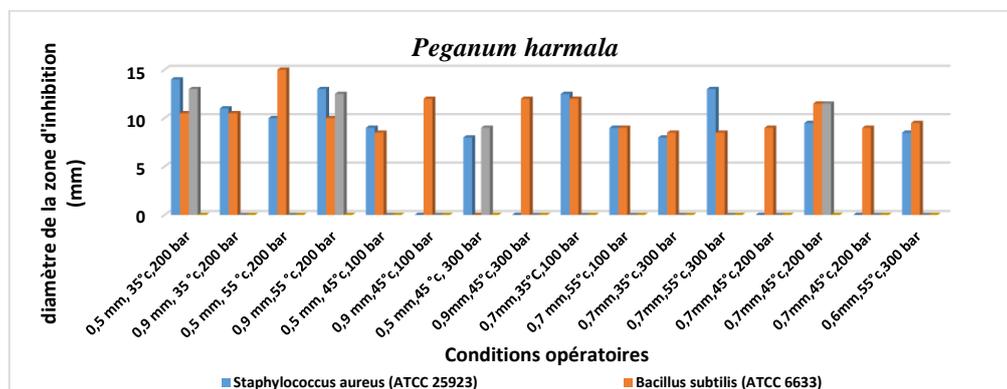


Figure 5.18: Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de *Peganum harmala* avec différentes conditions d'extraction (activité antibactérienne).

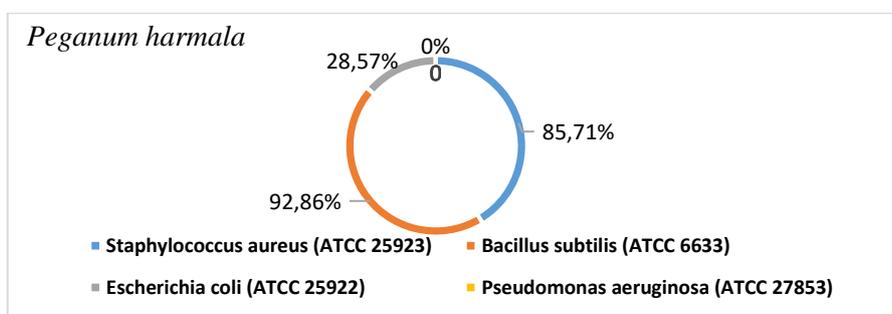


Figure 5.19: Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches bactériennes testées par les extraits de graine de *Peganum harmala*.

B. Activité antifongique

Les résultats d'inhibition ont montré une variation selon les paramètres opératoires de l'extraction. L'effet fongique de la plupart des extraits de *Peganum harmala* était très faible ou nul (*Fusarium roseum* & *Alternaria* sp) (Tableau 5.15 & figure 5.20).

Pour les extraits au dioxyde de carbone supercritique, la valeur d'inhibition la plus élevée a été enregistrée contre *Fusarium oxysporum* avec 20.5 mm aux conditions opératoires (0.7 mm, 35 °C et 300 bar), suivi de 20 mm à (0.5 mm, 45 °C et 300 bar). Parmi les 14 extraits, 31 % présente une inhibition contre *Fusarium oxysporum*, 25% contre *Fusarium nivale*, et moins de 20% pour le reste des champignons (Figure 5.21).

Alors que pour l'extrait au méthanol, la valeur d'inhibition la plus élevée de 30 mm a été enregistrée contre *Fusarium*, la levure *Candida* avec 20 mm.

Tableau 5.15: Les diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de *Peganum harmala* (mm) pour l'activité antifongique.

	d mm	T °C	P bar	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium nivale</i>	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Fusarium roseum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Alternaria sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Levure (Candidan albican570)</i>
1	0.5	35	200	-	-	-	-	-	-	-	8.5
2	0.9	35	200	-	9.5	-	-	-	-	12.5	10.5
3	0.5	55	200	-	-	-	-	-	-	-	-
4	0.9	55	200	-	8	-	-	-	-	-	-
5	0.5	45	100	12.5	-	12.5	-	-	-	-	-
6	0.9	45	100	-	-	-	-	-	-	-	-
7	0.5	45	300	19	-	-	-	20	-	-	-
8	0.9	45	300	-	9	-	-	-	-	14.5	9.5
9	0.7	35	100	-	-	12	-	-	-	-	-
10	0.7	55	100	-	-	-	-	-	-	-	-
11	0.7	35	300	20.5	-	-	-	-	-	-	11
12	0.7	55	300	-	-	-	-	-	-	-	8.5
13	0.7	45	200	16	8	-	-	12	-	-	14,5
14	0.5	55	300	-	-	-	-	11	-	-	10

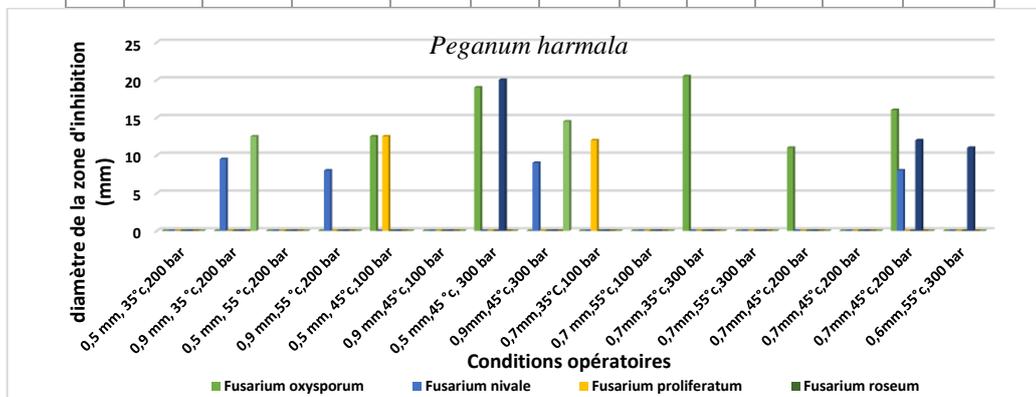


Figure 5.20: Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de *Peganum harmala* avec différentes conditions d'extraction (activité antifongique).

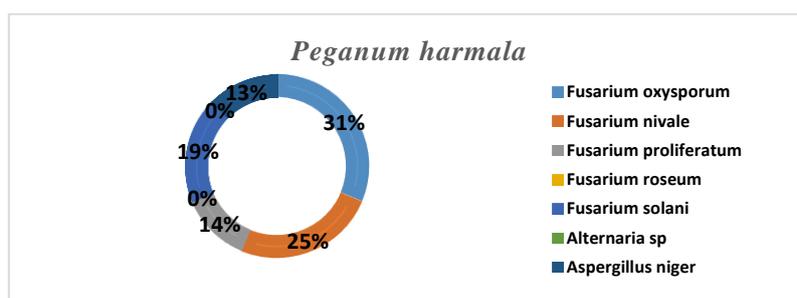


Figure 5.21: Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches fongiques testées par les extraits de graine de *Peganum harmala*.

5.4.2 *Plantago ovata*

5.4.2a Activité de piégeage des radicaux DPPH

- **Extraction par CO₂ supercritique**

Les résultats de piégeage des radicaux libres représentant le pourcentage d'inhibition sont présentés dans les tableaux (5.16 & 5.17) où la plus grande valeur d'inhibition enregistrée est égale à 20.98 %, à une concentration de 2 mg/mL, à pression et température de 100 bar et 40°C, respectivement et à d = 0.55 mm.

Ces résultats ont montré que les extraits supercritiques de *Plantago ovata* ont une faible activité antioxydante compte tenu de la concentration plus élevée préparée à partir de la solution initiale de 4 mg/ml et comparée à l'inhibition de l'acide ascorbique atteignant 97.14% à 100µg/ml, et à celles des extraits de Soxhlet obtenus avec des particules de diamètres 0.25 et 0.55 mm, qui ont enregistré des inhibitions totales de 92.69 et 93.84 % à 350 µg/ml, respectivement.

La figure (5.22) montre que le méthanol donne l'activité antioxydante la plus élevée de 93.84% dans le cas de la plus grande taille de particules de 550 µm contre 92.69 % pour la plus petite taille qui est de 250 µm.

Dans cette étude, le CO₂ supercritique n'a pas réussi à produire des composés bioactifs à partir du *Plantago ovata* en tant que soluté en raison de la polarité du composé et du solvant.

Le méthanol en tant que solvant a donné les pourcentages les plus élevés pour l'activité antioxydante, de flavonoïdes et de composés phénoliques totaux par rapport au CO₂ supercritique.

Tableau 5.16: valeurs d'inhibition maximale (IM) obtenues avec des extraits de graines de *Plantago ovata* par CO₂ supercritique.

Conditions			Inhibition %					
d mm	T °C	P bar	0.25 mg/ml	0.5 mg/ml	0.75 mg/ml	1 mg/ml	1.5 mg/ml	2 mg/ml
0.25	40	200	2.46	3.87	7.42	9.26	3.49	19.01
0.85	40	200	3.41	7.71	9.16	10.79	16.55	20.11

0.25	60	200	2.37	5.77	7.23	8.61	11.14	15.32
0.85	60	200	7.53	13.12	14.44	16.77	17.87	18.88
0.25	50	100	6.61	10.54	11.79	13.85	14.69	16.55
0.85	50	100	3.65	5.28	7.63	9.88	14	19.53
0.25	50	300	2.8	4.48	5.29	6.37	7.63	9.34
0.85	50	300	3.01	4.68	5.05	6.57	8.49	9.73
0.55	40	100	6.81	12.12	15.37	19.4	20.45	20.98
0.55	60	100	6.28	8.45	11.58	15.6	17.23	19.10
0.55	40	300	6.72	14.1	15.9	17.34	17.95	18.91
0.55	60	300	6.17	7.21	11.02	16.45	17.15	18.06
0.55	50	200	2.95	2.34	2.87	4.11	5.72	5.89
0.55	50	200	1.18	1.44	2.48	3.01	4.13	4.87
0.25	60	239	2.63	2.97	3.89	8.26	10.67	15.68

- **Extraction par Soxhlet**

Les résultats obtenus sont montrés comme suit:

Tableau 5.17: Valeurs IC_{50} et d'inhibition obtenues avec des extraits méthanoliques de graines de *Plantago ovata*.

$C(\mu\text{g/ml})$	15 $\mu\text{g/ml}$	25 $\mu\text{g/ml}$	34 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	200 $\mu\text{g/ml}$	250 $\mu\text{g/ml}$	350 $\mu\text{g/ml}$
Inhibition % 0.25 mm	21	41.03	IC_{50}	60.38	78	87.35	92.40	92.69
$C(\mu\text{g/ml})$	25 $\mu\text{g/ml}$	28 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	75 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	150 $\mu\text{g/ml}$	250 $\mu\text{g/ml}$	350 $\mu\text{g/ml}$
Inhibition % 0.55 mm	44.25	IC_{50}	84.40	93.62	93.78	93.79	93.83	93.84
$C(\mu\text{g/ml})$	0 $\mu\text{g/ml}$	1.5 $\mu\text{g/ml}$	2 $\mu\text{g/ml}$	5 $\mu\text{g/ml}$	10 $\mu\text{g/ml}$	50 $\mu\text{g/ml}$	100 $\mu\text{g/ml}$	
Inhibition % Acide Ascorbique	0	IC_{50}	65.47	91.79	93.87	95.82	97.14	

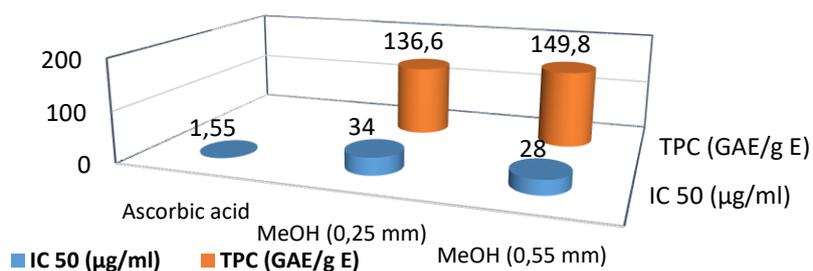


Figure 5.22: Valeurs IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) obtenues pour l'activité antioxydante par piégeage des radicaux 2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl (DPPH) et TPC (mg GAE/g E) dans les extraits méthanoliques.

5.4.2b Activité antimicrobienne

A. Activité antibactérienne

Les extraits de *Plantago* ont été testés contre *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853). Ils ont tous été efficaces contre les souches bactériennes testées, selon les conditions opératoires, mais la meilleure activité a été montrée par l'extrait obtenu par CO₂ supercritique à 0.25 mm, 60 °C et 239 bar, formant une zone maximale de 15 mm contre *E. coli* ATCC 25922 et 14.5mm contre *Bacillus subtilis* avec 0.85 mm, à 60 °C et 100 bar et 10.5 mm contre *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) (0.85 mm, 60 °C et 200 bar) (Tableau 5.18& Figure 5.23).

Les résultats ont également montré que tous les extraits n'avaient pas d'activité antibactérienne, bien qu'ils aient été extraits de la même plante, et cela est lié aux conditions d'extraction (taille des particules, température et pression).

Les extraits ont une inhibition plus élevée par rapport les nombres d'extraits contre *Bacillus subtilis* suivi de *Escherichia coli* (37.50 % d'inhibition) et *Staphylococcus aureus* avec une prévalence de 31.25% (figure 5.24).

Tableau 5.18: Test de sensibilité de différents extraits de *Plantago ovata* vis-à-vis des micro-organismes tests (mm) (activité antibactérienne).

	d mm	T °C	P bar	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923)	<i>Bacillus subtilis</i> (ATCC 6633)	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)
1	0.25	40	200	-	-	11	-
2	0.85	40	200	-	-	-	-
3	0.25	60	200	8.5	-	-	-
4	0.85	60	200	10.5	8	13.5	8
5	0.25	50	100	-	8.5	-	-
6	0.85	50	100	9	-	-	-
7	0.25	50	300	10	-	13	-
8	0.85	50	300	-	-	-	-
9	0.55	40	100	-	-	-	-
10	0.55	60	100	-	-	-	-
11	0.55	40	300	-	8	11	-
12	0.55	60	300	9	-	10	-
13	0.55	50	200	-	12	-	9
14	0.25	60	239	-	10.5	15	-
15	0.85	60	100	-	14.5	-	-

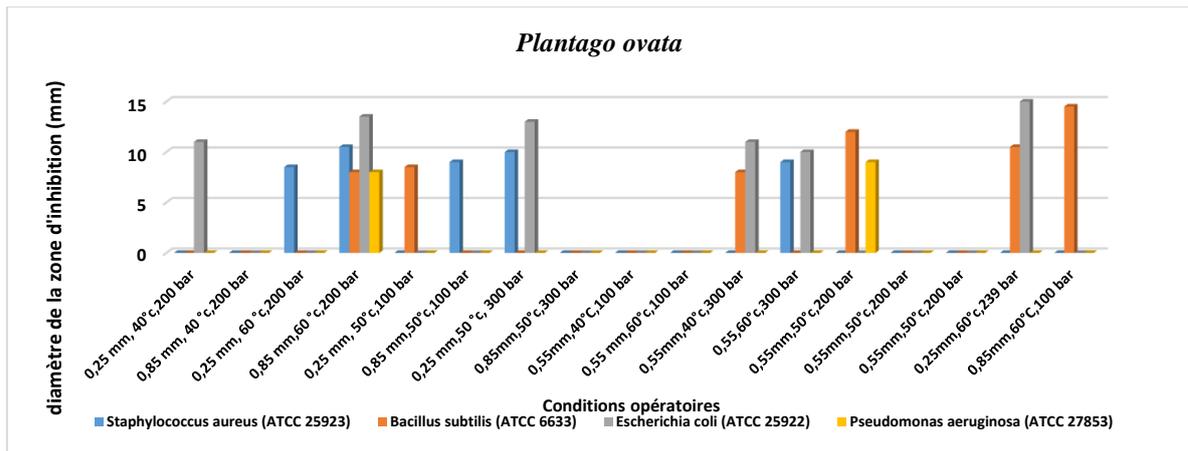


Figure 5.23: Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de *Plantago ovata* avec différentes conditions d'extractions (activité antibactérienne).

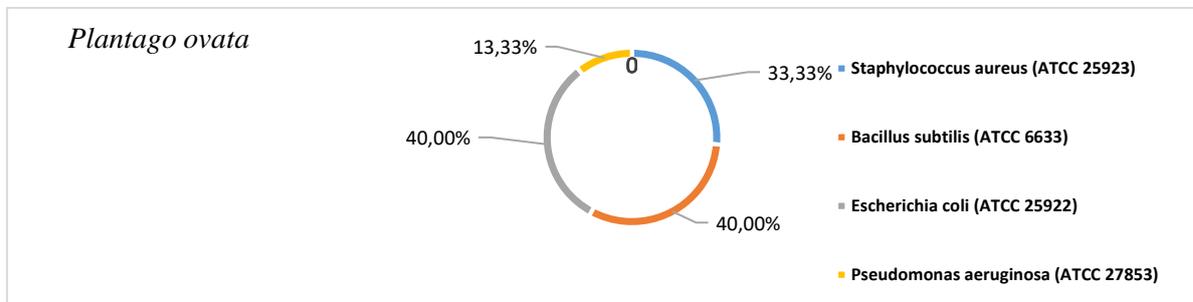


Figure 5.24: Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches bactériennes testées par les extraits de graine de *Plantago ovata*.

La figure (5.24) présente une comparaison de l'effet d'extraits végétaux sélectionnés sur les différents types de bactéries étudiées, selon les conditions opératoires (température, pression et granulométrie).

Tandis que les extraits de la plante *P. harmala* ont eu un effet plus important sur les deux bactéries *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* de 85.71, et 92.86%, respectivement (Figure 5.19), aucun effet n'a été enregistré contre *Pseudomonas aeruginosa* contrairement aux graines de *Plantago* qui ont enregistré 13.33% des extraits totaux. Ce dernier a enregistré le taux le plus élevé contre *Escherichia coli* à Gram négatif (ATCC 25922) et *Bacillus subtilis* de 40%. Ceci est dû à l'effet des paramètres opératoires sur le processus d'extraction des composés bioactifs qui sont principalement responsables de cette activité.

B. Activité antifongique

De même pour les graines de *Plantago*, où les résultats ont montré une variation selon les différentes conditions opératoires avec les résultats d'inhibition compris entre 8 et 14.5 mm, enregistrés contre *Aspergillus niger* dans des conditions de 50°C, 0.85 mm et 100 bar. La valeur la plus faible a été enregistrée contre *Fusarium nivale* et la levure *Candida albicans* 570 à 60 °C, 0,55 mm et 100 bars.

Tableau 5.19: Les diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de *Plantago ovata* (mm) pour l'activité antifongique.

	d mm	T °C	P bar	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium nivale</i>	<i>Fusarium proliferatum</i>	<i>Fusarium roseum</i>	<i>Fusarium solani</i>	<i>Alternaria sp</i>	<i>Aspergillus niger</i>	<i>Candida albicans 570</i>
1	0.25	40	200	11	-	11	-	12	-	-	-
2	0.85	40	200	14	-	-	-	-	-	-	-
3	0.25	60	200	-	9	9	-	-	-	-	-
4	0.85	60	200	-	-	-	-	-	-	12	-
5	0.25	50	100	12.5	-	9.5	-	-	-	-	-
6	0.85	50	100	-	-	-	-	-	-	14.5	12
7	0.25	50	300	-	-	11.5	-	-	-	-	-
8	0.85	50	300	-	-	13	-	-	-	-	-
9	0.55	40	100	9	-	12	-	12.5	-	-	-
10	0.55	60	100	-	8	-	-	-	-	-	8
11	0.55	40	300	-	-	-	-	-	-	-	9.5
12	0.55	60	300	-	-	-	-	-	-	-	-
13	0.55	50	200	-	-	-	-	-	-	-	-
14	0.55	50	200	12	12	-	-	12.5	-	-	-
15	0.25	60	239	-	10	-	-	-	-	-	-

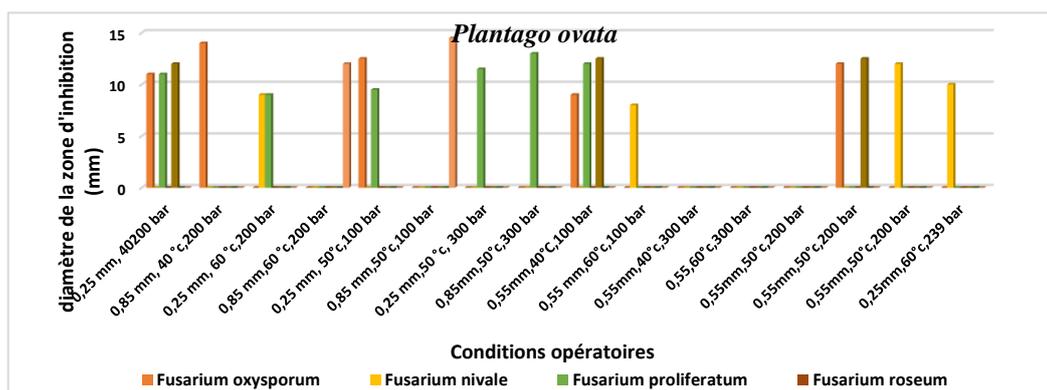


Figure 5.25: Comparaison du diamètre de la zone d'inhibition produite par les extraits de *Plantago ovata* à différentes conditions d'extractions (activité antifongique).

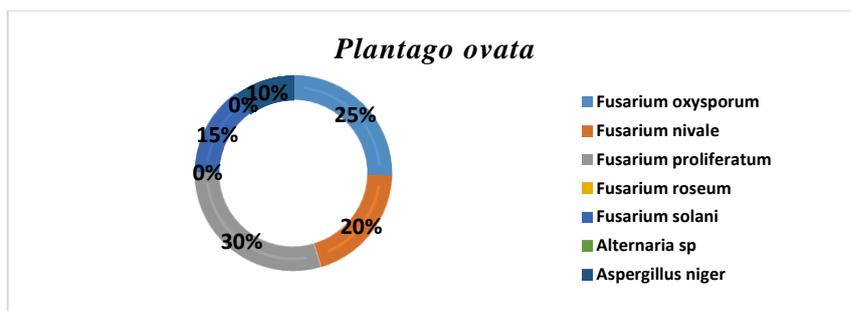


Figure 5.26: Donut Chart représente le pourcentage d'inhibition des souches fongiques testées par les extraits de graine de *Plantago ovata*.

Selon la figure 5.26, il apparaît qu'il existe un effet similaire des extraits de *Peganum harmala* et des extraits de *Plantago ovata* sur l'activité antifongique, à l'exception de *Fusarium proliferatum*, où l'effet des extraits de *Plantago* était de 30 % par rapport aux extraits de *Peganum harmala* avec 12 % (Figure 5.21).

Cependant, les résultats des extraits de *Peganum harmala* ont donné plus d'inhibition que ceux de *Plantago ovata*, car la valeur d'inhibition la plus élevée est de 20 mm contre *Fusarium solani* et de 19 mm contre *Fusarium oxysporum* avec un diamètre de particule de 0.5 mm, 45°C et 300 bar.

Finalement tous les extraits issus des deux plantes sélectionnées, n'ont pas eu d'effet sur les champignons *Fusarium roseum* et *Alternaria sp*.

5.5 Résultats d'analyse chromatographiques (GC-MS) des extraits

5.5.1 *Peganum harmala*

- *Acides gras*

Les composés ont été identifiés à partir de la bibliothèque de la base de données PTAPC Ouargla de l'instrument GC-MS, donnant leur nom, temps de rétention et pourcentage de pic (surface) comme montré dans (Annexe E).

La composition chimique des extraits issus de l'extraction par CO₂ supercritique à partir de *Peganum harmala* a été déterminée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la masse, identifiant des composés de base et où seuls quatre composés sont majeurs dans tous les extraits. Ils représentent 74.5 % pour E1, 75.07, 77.86, 82.81 et 67.77 % pour E2, E3, E4 et E5, respectivement. Ester méthylique de l'acide hexadécanoïque (15.05 %), n-propyle 9,12-octadécadienoate (24.33 %), acide 9-octadécoïque, ester méthylique (E) (24.56 %) et stéarate de méthyle (10.56 %) pour E1.

Concernant E2, Ester méthylique de l'acide hexadécanoïque (9.94 %); acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z), ester méthylique (32.22 %), acide 9-octadécoïque, ester méthylique (E) (26.91 %) et stéarate de méthyle (6 %). Ester méthylique de l'acide hexadécanoïque (14.52 %), n-propyle 9,12-octadécadiénoate (26.33 %), acide 9-octadécoïque, ester méthylique (E) (26.42 %) et stéarate de méthyle (10.59 %) pour E3.

Ester méthylique de l'acide hexadécanoïque (14.59 %), n-propyle 9,12-octadécadiénoate (23.56 %), acide 9-octadécoïque, ester méthylique (E) (23.88 %) et stéarate de méthyle (10,78 %) pour E4. Ester méthylique de l'acide hexadécanoïque (13.89 %), n-propyle 9,12-octadécadiénoate (21.84 %), acide 9-octadécoïque, ester méthylique (E) (21.89 %) et stéarate de méthyle (10.15 %) pour E5.

Le composé le plus abondant de *Peganum harmala* comme observé par le profilage GC-MS dans cette étude, est l'acide hexadécanoïque connu pour avoir des propriétés anti-inflammatoires, antibactériens [150] et antifongiques [151]. L'acide palmitique, ou acide hexadécanoïque, est l'acide gras saturé le plus répandu chez les plantes, les animaux et les humains. L'acide palmitate appartient aux acides gras libres, qui jouent un rôle important en tant que source d'énergie pour l'organisme. Le PAME endogène jouer un rôle dans la modulation de la transmission ganglionnaire autonome et des effets vasodilatateurs de l'oxyde nitrique (NO) [152]. Acide 9, 12-octadécadiénoïque (Z,Z) est un acide gras essentiel polyinsaturé et est utilisé dans la biosynthèse des prostaglandines et des membranes cellulaires, antiinflammatoire, hépatoprotecteur, anti-arthrite, antihistaminique [153]. Stéarate de méthyle" comme agent antimousse et nutriment de fermentation [154]. Selon Qiaofang palmitate de méthyle et du stéarate de méthyle ont été utilisé comme nématicide contre *Meloidogyne incognita* dans les bananes. Ils sont sensibles à l'infection par de nombreux nématodes phytoparasites. Les composés bioactifs (palmitate de méthyle et stéarate de méthyle) dans le bouillon de fermentation ont inhibé l'éclosion et la reproduction des œufs et repoussé les nématodes juvéniles au deuxième stade des racines de bananier pour réduire l'infection par les nématodes.

L'évaluation de la toxicité a indiqué que le bouillon de fermentation, le palmitate de méthyle et le stéarate de méthyle pourraient être utilisés comme approches écologiques pour lutter contre les nématodes. Des concentrations plus faibles de ces composés sont sans danger dans le sol. Ainsi, le traitement avec le bouillon de fermentation peut être une méthode favorable pour favoriser la croissance de la banane et contrôler les nématodes des racines sur le terrain. Ces résultats pourraient permettre l'élaboration de méthodes

améliorées de lutte contre les nématodes qui appuieront la production agricole et la protection de l'environnement [155].

En général, les acides gras ont des propriétés antibactériennes et antifongiques[156]

- **Protocole 2 (sans estérification)**

L'analyse GC-MS vise à évaluer le profil chimique des graines de *Peganum harmala* et de *Plantago ovata* en identifiant les principaux constituants chimiques présents. L'identification est basée sur le poids moléculaire et les profils de fragmentation générés par spectrométrie de masse, une technique qui sépare les composés par volatilité.

L'identification des composés a été effectuée selon la comparaison de l'indice de similarité des composés trouvés dans la bibliothèque incorporée dans le logiciel. Afin d'évaluer si le processus d'extraction serait plus efficace avec la méthode conventionnelle (solvant polaire) qu'avec celle innovante (CO₂ apolaire) ou s'il serait possible d'extraire les β -carbolines à partir de graines entières concernant la plante *Peganum harmala* (Annexe E), ce qui facilitera le traitement des échantillons.

Les β -carbolines telles que l'harmaline, l'harmine, l'harmalol et l'harmol sont les principaux alcaloïdes du *Peganum harmala*. Différentes parties de la plante contiennent les alcaloïdes ci-dessus dans des proportions variables. Par exemple, les graines et les racines contiennent les niveaux les plus élevés d'alcaloïdes, les tiges et les feuilles contiennent des quantités plus faibles et les fleurs ne contiennent pas d'alcaloïdes [157]. Ces alcaloïdes ont été étudiés pour leurs diverses propriétés biologiques aussi bien in vitro qu'in vivo. L'harmine et l'harmane, qui constituent 2 à 6 % des graines de *Peganum harmala*, ont un large éventail d'utilisations thérapeutiques et sont très répandues dans les plantes[158].

Dans le chromatogramme de la figure 5.27 obtenu après analyse GC-MS d'extrait MtOH de *P. harmala*, la présence de 16 pics a été observée et trois β -carbolines ont été identifiées où le pic 7 correspond à Harmaline artificielle (37.2 min), pic 8 à Harmaline (temps de rétention 37.6 min) et pic 9 à Harmine (temps de rétention 38.2 min). Les composés identifiés sont montrés dans le tableau 5.22, ainsi que d'autres composés comme des hydrocarbures, leurs dérivés et des acides gras.

Actuellement il est considéré que l'hamarin comme l'un des principaux composés actifs des alcaloïdes bêta-carbolines, possédant de multiples activités biochimiques et pharmacologiques [28].

Diverses activités biologiques ont été identifiées pour l'harmine et d'autres alcaloïdes apparentés dans les graines de *Peganum harmala*. En plus des effets cardiovasculaires, ceux antibactériens et cytotoxiques ont été rapportés [159].

Des études antérieures ont montré que l'harmine possède diverses activités pharmacologiques telles que des propriétés anti-Alzheimer, anticancéreuses, anti-inflammatoires et antioxydantes. Il a été rapporté que l'harmine présente une activité neuroprotectrice importante dans le traitement des troubles neurologiques. Des études récentes sur les β -carbolines naturelles montrent également que ces composés naturels présentent une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex (HSV-1 et HSV-2), le poliovirus, le virus de l'immunodéficience humaine et le virus de la dengue [160].

Dans l'analyse de l'huile extraite par CO₂ supercritique, la présence de 11 pics a été observée et il n'a pas été possible d'identifier les β -carbolines harmaline et harmine.

Les résultats de l'analyse montrent la différence entre les deux méthodes d'extraction avec des composés différents pour chaque extrait, ce qui explique la différence d'effets biologiques (antioxydant, antifongique et antibactérien). L'extrait MtOH a donné de meilleures activités que l'extrait supercritique en raison de la présence des alcaloïdes.



Figure 5.27: Chromatogrammes obtenus après analyse GC-MS de MtOH et d'extraits supercritiques de graines de *Peganum harmala*.

5.5.2 *Plantago ovata*

- **Acides gras**

L'analyse GC-MS des extraits supercritiques de *Plantago ovata* est présentée dans (l'Annexe F), respectivement. L'analyse GC-MS a montré 40 constituants dans des extraits supercritiques. L'abondance la plus élevée de l'acide 9-octadécénoïque, ester méthylique

(E), n-propyle 9,12-octadécadienoate, suivie de l'acide hexadécanoïque, ester méthylique, a été observée comme le montre le tableau pour les extraits (E1, l'E3 et l'E4).

Pour l'extrait E2, le composant le plus élevé était l'acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z), l'ester méthylique (24,18 %), où le composant de n-Propyl 9,12-octadécadienoate n'a pas été trouvé dans cet extrait. Ces ingrédients, ainsi que le stéarate de méthyle, représentent les constituants prédominants de ces extraits.

- **Composés identifiés par le protocole 2 (sans estérification)**

Le chromatogramme de la figure(5.28) et Tableau dans l'Annexe F obtenu après analyse GC-MS de l'extrait Méthanoïque et supercritique de *P. ovata*, montrent la présence de 32 et 16 pics, respectivement. La différence significative dans les extraits de graines de *Plantago ovata* est expliquée par le fait que l'extrait obtenu par le méthanol est bien caractérisé par une activité antioxydante significative, contrairement à ceux issus de l'extraction par CO₂ supercritique qui n'ont fait preuve d'aucune activité. Les résultats obtenus dans l'analyse ont montré la présence de composés bioactifs (coumarine, gamma-tocophérol) dans l'extrait obtenu par le méthanol et leur absence totale dans les extraits issus de l'extraction à CO₂ supercritique.

Les résultats de l'analyse montrent la différence entre les deux méthodes d'extraction, qui ont donné des composés différents à dans chaque extrait, ce qui explique la différence d'activité antioxydante. L'extrait MtOH a donné de meilleures activités que l'extrait supercritique en raison de la présence de la coumarine.

Les coumarines sont des analogues des benzopyrones qui sont des métabolites secondaires présents dans diverses espèces de plantes (plus de 1300 coumarines ont été identifiées à partir de sources naturelles, notamment des plantes vertes) mais aussi des champignons et des micro-organismes [161], [162].

Les coumarines et les hybrides à base de coumarine ont démontré de nombreuses propriétés biologiques, notamment des activités anticancéreuses, anti-inflammatoires, antioxydantes, antivirales, antimicrobiennes, antifongiques, antituberculeuses, anticoagulantes, antispasmodiques, antihyperglycémiques, antitubulines, immunosuppressives, hépatoprotectrices, antidiabétiques et neuroprotectrices [32].

Les espèces réactives intracellulaires de l'oxygène (ROS) sont cruciales pour le métabolisme cellulaire normal. La génération de ROS est fortement régulée par des

molécules réductrices enzymatiques (catalases, peroxydases et dismutases) ou non enzymatiques (vitamine A, C ou E). Les perturbations de l'équilibre redox cellulaire peuvent conduire à une suraccumulation de ROS. Les cellules produisent également des ROS après exposition à des radiations ou à des chimiothérapies, dont beaucoup induisent des ROS à des niveaux toxiques dans le cadre de leur mécanisme d'action.

Les tocophérols alpha et gamma sont tous deux des antioxydants susceptibles de réduire les dommages causés par les ROS induits par la chimiothérapie et, par conséquent, de réduire l'insuffisance ovarienne prématurée.

Les tocophérols (alpha, bêta, gamma et delta) et les tocotriénols (alpha, bêta, gamma et delta) qui forment ensemble la vitamine E, agissent comme des piègeurs de radicaux libres dans les membranes cellulaires. L'alpha-tocophérol est la forme la plus abondante dans la nature, tandis que le gamma-tocophérol est la forme la plus courante dans l'alimentation humaine. Il a été proposé que la cardiotoxicité induite par Dox soit le résultat de la peroxydation des lipides membranaires induite par les ROS et que la carence en vitamine E entraîne des caractéristiques histologiques comparables au tissu cardiaque traité par Dox.

La vitamine E naturelle, existant dans un groupe de douze homologues chimiques, dont quatre tocophérols (alpha-, bêta-, gamma et delta-tocophérols), quatre tocotriénols (alpha, bêta-, gamma- et delta-tocotriénols) et quatre tocomonoénols (alpha, bêta, gamma et delta-tocomonoénols), qui suscitent un intérêt croissant en tant qu'antioxydants naturels liposolubles. Les α - et gamma-tocophérols sont considérés comme deux formes prédominantes dans le groupe de la vitamine E, et l'alpha-tocophérol est principalement distribué dans les plantes à feuilles vertes, et le gamma-tocophérol dans les parties non vertes des plantes (par exemple, les fruits et les graines) dans le règne végétal [163].

La vitamine E agit comme un antioxydant et réduit le niveau d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans la maladie d'Alzheimer (MA). L'alpha-tocophérol (ATF) est la forme de vitamine E la plus étudiée avec le gamma-tocophérol (GTF) qui présente également des effets bénéfiques dans la MA [164].

Le gamma-tocophérol a retardé la formation de tumeurs cancéreuses du sein dans des modèles de rongeurs et a induit l'apoptose des cellules cancéreuses du sein *in vitro* et pourrait prévenir le cancer du sein *in vivo*.

De plus, un mélange de tocophérols gamma et delta a régulé à la baisse l'expression du récepteur des œstrogènes et inhibé la prolifération des cellules cancéreuses du sein MCF-7, humaines induites par l'œstradiol in vitro[165].

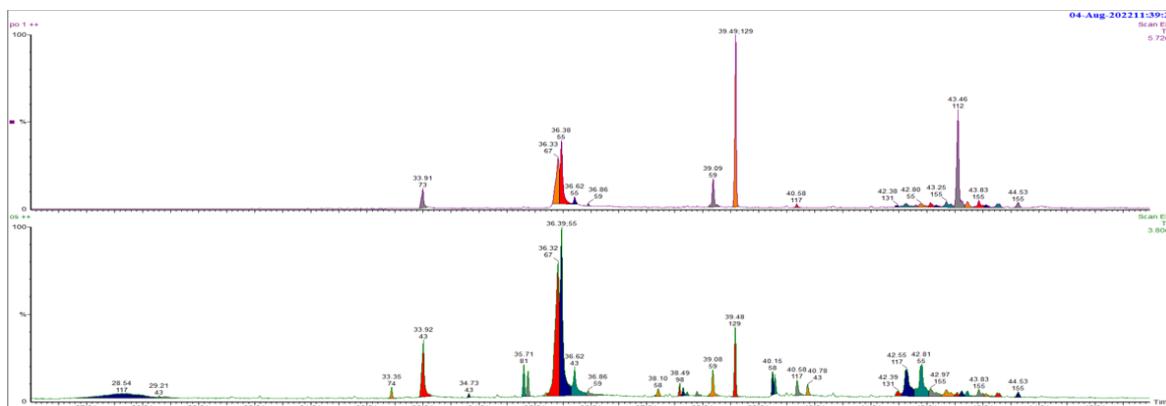


Figure 5.28: Chromatogramme obtenu après analyse GC-MS de MtOH et d'extraits supercritiques de graines de *Plantago ovata*.

Dans cette partie, nous avons procédé à l'optimisation du rendement d'extraction ainsi qu'à la mise en évidence des activités biologiques des extraits obtenus en fonction des conditions opératoires en évaluant l'activité antioxydante, antibactérienne et antifongique. La comparaison du dioxyde de carbone supercritique et de l'extraction par solvant a confirmé les limites de l'utilisation du dioxyde de carbone comme solvant. Cela soutient l'idée de le remplacer par un autre solvant supercritique capable de sélectionner des composés bioactifs tout en conservant des propriétés respectueuses envers l'environnement.

5.6. Modélisation thermodynamique : Résultats et discussions

Il est important d'examiner la fiabilité de chaque méthode prédictive pour l'estimation des propriétés ciblées (propriétés critiques, facteur acentrique, volume molaire, volume et pression de saturation, etc.). A cet effet un nombre appréciable de constituants ont été considérés, comme montré par les tableaux suivants:

5.6.1 Propriétés critiques

5.6.1a Température critique

Les cinq méthodes utilisées sont montrées dans le tableau suivant et les résultats de chacune comparés avec les valeurs expérimentales rapportées de la littérature.

Tableau 5.20: Valeurs de température critique calculées par les méthodes de contribution de groupe et les valeurs expérimentales.

<i>T_c</i> (K)						<i>Constituant</i>
<i>Lydersen</i>	<i>Fedors</i>	<i>Joback</i>	<i>Ambrose</i>	<i>Constantinou</i>	<i>T_c_exp</i>	
626.1064	471.2353	630.3832	636.9561	600.7721	639.00	Oxalate de diméthyle[74]
634.1880	508.9656	638.8422	645.3997	622.3706	649.00	Malonate de diméthyle [74]
644.4159	541.4163	649.0284	656.2177	641.6659	662.00	Succinate de diméthyle[74]
497.6910	569.8853	501.4565	507.1795	659.1021	682.00	Glutarate de diméthyle[74]
666.2793	595.2437	671.6896	635.7958	675.0063	692.00	Adipate de diméthyle[74]
606.5882	618.1048	611.5343	581.9620	689.6259	711.00	Pimélate de diméthyle[74]
512.0368	638.9167	516.1753	493.5452	703.1532	723.00	Subérate de diméthyle[74]
695.5551	658.0167	701.0565	673.0801	715.7401	742.00	Sébacate de diméthyle[74]
510.0204	551.5873	563.0727	564.3517	474.0361	563.40	2,3-dimethylhexane
510.0204	551.5873	563.0727	553.6037	474.0361	553.50	2,4-dimethylhexane
510.0204	551.5873	563.0727	548.5166	474.0361	550.00	2,5-dimethylhexane
561.6852	494.4894	561.3161	562.0349	563.1558	562.00	Benzène
602.7892	527.4433	593.6659	593.2175	596.1716	591.60	Toluène
370.5486	370.2013	368.2841	370.4928	348.4877	369.70	Propane
470.4110	471.2353	480.4036	469.0289	475.8231	469.55	Pentane
425.6947	426.1673	423.8856	423.6165	423.1221	425.16	butane
508.2962	508.9656	507.6979	505.7343	516.5959	507.60	hexane
615.2682	618.1048	617.0194	617.4805	623.6906	617.70	Decane
412.4541	409.2338	410.2638	410.0577	399.3283	407.80	2-methyl propane
462.6954	457.3784	461.0467	460.3436	458.3374	460.40	2-methyl butane
592.5927	497.2391	575.3425	503.6647	502.7733	504.60	3-methyl pentane
491.4460	491.1462	491.8907	511.8889	491.5476	489.00	2,2-Dimethyl butane
501.6026	484.8892	500.1349	499.7914	487.8079	499.98	2,3-Dimethyl butane
544.8972	497.2391	543.7922	530.6674	502.7733	530.40	2-methyl hexane
281.2845	-----	279.6142	319.4278	-----	282.34	Ethylène
363.6282	326.7032	363.8461	369.6099	344.3275	364.90	Propylène
463.4558	466.9153	464.9769	467.7635	473.7754	464.59	Pentène
502.7900	466.9153	504.9726	507.4603	473.7754	504.00	hexène
535.8625	538.2303	538.6669	540.5225	548.4979	537.30	heptène
564.5203	567.0689	567.8918	568.8779	576.7833	567.00	Octène
424.0190	415.5351	427.6983	436.2886	417.5908	425.00	1,3-butadiène
419.2585	417.8548	415.2954	443.3488	402.3807	402.39	Propyne
561.0017	565.4441	559.9198	575.168	569.4113	559.70	Heptyne
587.0901	591.2656	586.7471	600.2103	594.8184	586.90	Octyne
455.2419	459.9601	455.1158	485.7728	458.3172	455.00	1-butène-3-yne
561.9329	546.7784	563.313	564.1731	549.6958	563.53	2,2,3-trimethylpentane
714.8746	527.4433	725.9872	725.4388	530.1322	701.00	N-methylaniline
629.5958	604.2117	629.5407	633.8135	699.1562	632.00	chlorobenzene
700.0920	732.729	699.4734	711.6617	489.7147	685.00	P-dichlorobenzene

635.1414	581.9631	610.2661	610.1387	648.2693	602.20	1-trans-3,5 trimethylcyclohexane
688.9371	625.4612	656.9232	672.6101	533.8743	664.50	1,2,3-trimethylbenzene
560.0435	551.5873	542.6523	534.8497	496.5632	550.80	1,2,3,4-terfluorobenzene
752.3026	679.3143	751.8336	753.5997	732.5280	752.00	Benzoic acide
694.1677	697.9024	698.1056	721.1333	718.6221	703.00	2-Ethyl phynol
495.9398	500.4964	495.8358	505.6951	494.9020	508.00	C ₃ H ₆ O
495.5989	511.2929	494.0722	494.7468	516.7893	497.00	n-propyl Amine
554.9579	566.2579	562.6785	555.1843	558.9110	563.05	butanol
546.4058	557.1451	562.2764	545.3658	548.0564	547.78	2-methyle-1-propanol
516.8139	552.4510	543.1438	508.3972	539.3745	506.21	2-methyle-2-propanol
534.9327	557.1451	560.8213	533.9146	586.5635	536.05	2butanol

La fiabilité de chaque méthode a été évaluée en calculant la déviation relative et les résultats sont comme suit:

Tableau 5.21: Déviation relative entre les valeurs expérimentales et calculées par les différentes méthodes de contribution de groupe.

$$\delta/\% = (\text{abs}((T_{exp} - T_{pred}))/T_{exp})$$

$\delta/\% = \frac{ T_{exp} - T_{cal} }{T_{exp}}$					Constituant
Lydersen	Fedors	Joback	Ambrose	Constantinou	
Asters					
2.018	26.254	1.348	0.320	5.982	Oxalate de diméthyle
2.282	21.577	1.565	0.555	4.103	Malonate de diméthyle
2.656	18.215	1.959	0.873	3.072	Succinate de diméthyle
27.0248	16.439	26.473	25.633	3.357	Glutarate de diméthyle
3.717	13.982	2.935	8.122	2.456	Adipate de diméthyle
14.685	13.065	13.989	18.149	3.006	Pimélate de diméthyle
29.179	11.63	28.606	31.736	2.745	Subérate de diméthyle
6.259	11.318	5.518	9.288	3.539	Sébacate de diméthyle
Alcanes ramifiés					
9.470	2.100	0.060	0.170	15.860	2,3-dimethylhexane
7.860	0.350	1.730	0.020	14.360	2,4-dimethylhexane
7.270	0.290	2.380	0.270	13.810	2,5-dimethylhexane
1.140	0.350	0.600	0.550	2.080	2-methyl propane
0.500	0.660	0.140	0.010	0.450	2-methyl butane
17.440	1.460	14.020	0.190	0.360	3-methyl pentane
0.500	0.440	0.590	4.680	0.520	2,2-dimethyl butane
0.320	3.020	0.030	0.040	2.430	2,3-dimethyl butane

2.730	6.250	2.520	0.050	5.210	2-methyl hexane
0.280	2.970	0.040	0.110	2.450	2,2,3-trimethylpentane
Alcanes					
0.230	0.140	0.380	0.210	5.740	Propane
0.180	0.360	2.310	0.110	1.340	Pentane
0.130	0.240	0.300	0.360	0.480	butane
0.140	0.270	0.020	0.370	1.770	hexane
0.390	0.070	0.110	0.040	0.970	Decane
Alcène					
0.370	-----	0.970	13.140	-----	Ethylène
0.350	10.470	0.290	1.290	5.640	Propylène
0.240	0.500	0.080	0.680	1.980	Pentène
0.240	7.360	0.190	0.690	6.000	hexène
0.270	0.170	0.250	0.600	2.080	heptène
0.440	0.010	0.160	0.330	1.730	Octène
0.230	2.230	0.630	2.660	1.740	1,3-butadiène
Alcynes					
4.190	3.840	3.210	0.180	0.000	Propyne
0.230	1.030	0.040	2.760	1.740	Heptyne
0.030	0.740	0.030	2.270	1.350	Octyne
0.050	1.090	0.030	6.760	0.730	1-butène-3-yne
Alcools					
1.440	0.570	0.070	1.400	0.740	butanol
0.250	1.710	2.650	0.440	0.050	2-methyle-1-propanol
2.090	9.130	7.300	0.430	6.550	2-methyle-2-propanol
0.210	3.940	4.620	0.400	9.420	2butanol
Aromatiques					
0.060	12.010	0.120	0.010	0.210	Benzène
1.890	10.840	0.350	0.270	0.770	Toluène
0.380	4.400	0.390	0.290	10.630	chlorobenzene
2.200	6.970	2.110	3.890	28.510	P-dichlorobenzene
3.680	5.870	1.140	1.220	19.660	1,2,3-trimethylbenzene
1.680	0.140	1.480	2.900	9.850	1,2,3,4-terfluorobenzene
1.980	24.760	3.560	3.490	24.370	N-methylaniline
5.470	3.360	1.340	1.320	7.650	1-trans-3,5 trimethylcyclohexane
Carboxyliques					
0.040	9.670	0.020	0.210	2.590	Benzoic acid
1.260	0.730	0.700	2.580	2.220	2-Ethyl phynol
$\delta_{moyenne} \% = \frac{1}{N} \frac{ T_{exp} - T_{cal} }{T_{exp}}$					

5.6.1b Pression critique

Tableau 5.22: Valeurs de température critique calculées par les méthodes de contribution de groupe et les valeurs expérimentales.

P_c (bar)					Compound
Lydersen	Joback	Ambrose	Constantinou	P_cexp	
41.740	43.858	42.089	39.186	40.6	Oxalate de diméthyle [74]
36.290	38.771	36.558	34.716	35.5	Malonate de diméthyle [74]
32.091	34.521	32.302	30.994	30.6	Succinate de diméthyle [74]
28.758	30.933	28.929	27.862	27.7	Glutarate de diméthyle [74]
26.048	27.876	26.190	25.201	25	Adipate de diméthyle [74]
23.804	25.252	23.923	22.922	23.7	Pimélate de diméthyle [74]
21.914	22.9811	22.0149	20.955	23	Subérate de diméthyle [74]
21.617	20.4007	21.7099	19.246	20.8	Sébacate de diméthyle [74]
12.633	25.7672	26.2740	26.134	26.3	2,3-dimethylhexane
12.633	25.7672	25.6302	26.134	25.56	2,4-dimethylhexane
12.633	25.7672	25.0097	26.134	24.88	2,5-dimethylhexane
50.151	47.6939	48.9666	48.625	48,9	Benzène
52.801	41.1441	33.5586	41.791	41,1	Toluène
43.403	44.0910	42.6380	45.4697	42,5	Propane
33.847	34.684	33.434	35.290	33.70	Pentane
38.169	38.965	37.539	39.880	38	Butane
30.316	31.071	29.934	31.474	29.9	Hexane
21.210	21.081	21.022	21.213	21.1	Decane
39.243	39.357	37.904	39.831	36.5	2-méthyl propane
34.649	35.013	33.639	35.249	33.8	2-methyl butane
48.617	31.919	31.097	31.473		3-methyl pentane
30.936	31.740	33.385	32.238	31.02	2,2-dimethyl butane
31.576	31.633	31.322	31.472	31.45	2,3-dimethyl butane
35.972	28.233	27.269	31.473	27.5	2-methyl hexane
53.519	52.662	53.123	-----	50.60	Ethylène
46.626	46.657	47.021	48.843	46,2	Propylène
35.678	36.465	35.883	37.549	35.92	Pentène
31.754	32.578	31.850	37.549	32.1	Hexène
43.275	43.397	44.547	45.668	43.22	1,3-butadiène
54.169	54.2251	60.816	56.280	56.28	Propyne
31.810	26.0574	27.638	26.071	27.30	2,2,3-trimethylpentane
53.824	37.9632	39.029	53.934	52.0	N-methylaniline
45.317	44.444	44.808	43.977	45.20	Chlorobenzene
57.566	47.301	71.786	60.191	39.00	P-dichlorobenzene
55.853	25.689	27.024	31.920	34.50	1-trans-3,5 trimethylcyclohexane
64.278	25.611	32.077	37.051	37.90	1,2,3-trimethylbenzene
68.728	46.277	41.576	44.897	45.60	Benzoic acide
43.285	44.091	41.479	42.968	43.00	2-Ethyl phynol
46.969	48.766	56.745	49.082	47.00	C ₃ H ₆ O

48.674	47.628	47.714	50.109	48.10	n-propyl Amine
44.194	44.563	41.028	41.968	44.23	butanol
45.378	45.777	41.397	41.966	43.00	2-méthyle-1-propanol
45.378	47.236	42.935	43.168	39.73	2-méthyle-2-propanol
45.378	44.563	41.397	47.935	41.79	2-butanol

Tableau 5.23: Déviation relative entre les valeurs expérimentales et calculées par les différentes méthodes de contribution de groupe.

Erreur relative %				Composés
Lydersen E	Joback E	Ambrose E	Constantinou E	
ASTERS				
2.808	8.024	3.669	3.482	Oxalate de diméthyle
2.226	9.215	2.981	2.209	Malonate de diméthyle
4.872	12.813	5.563	1.286	Succinate de diméthyle
3.818	11.671	4.437	0.583	Glutarate de diméthyle
4.194	11.5064	4.76	0.8048	Adipate de diméthyle
0.437	6.548101	0.938819	3.281435	Pimélate de diméthyle
4.723	0.082174	4.283043	8.889565	Subérate de diméthyle
3.927	1.919712	4.374519	7.471635	Sébacate de diméthyle
Alcanes ramifiés				
51.966	2.026	0.099	0.630	2,3-diméthylhexane
50.575	0.811	0.275	2.246	2,4-diméthylhexane
49.224	3.566	0.521	5.041	2,5-diméthylhexane
7.515	7.828	3.847	9.126	2-méthyl propane
2.513	3.588	0.476	4.288	2-méthyl butane
0.269	2.320	7.623	3.927	2,2-diméthyl butane
0.402	0.581	0.406	0.070	2,3-diméthyl butane
30.807	2.666	0.842	14.447	2-méthyl hexane
16.520	4.552	1.238	4.502	2,2,3-triméthylpentane
Alcanes				
2.124	3.743	0.325	6.987	Propane
0.437	2.919	0.790	4.718	Pentane
0.445	2.539	1.212	4.948	butane
1.390	3.916	0.112	5.264	hexane
0.523	0.091	0.369	0.536	Decane
Alcène				
5.768	4.076	4.987	/	Ethylène
0.922	0.989	1.777	5.720	Propylène
0.672	1.518	0.103	4.536	Pentène
1.079	1.491	0.779	16.976	Hexène
0.127	0.409	3.070	5.665	1,3-butadiène
Alcools				
0.081	0.753	7.239	5.114	butanol
5.531	6.459	3.727	2.403	2-méthyle-1-propanol
14.217	18.892	8.067	8.654	2-méthyle-2-propanol
8.587	6.636	0.940	14.705	2butanol
aromatiques				
2.558	2.466	0.136	0.563	Benzène
28.470	0.107	18.349	1.680	Toluène
0.259	1.672	0.867	2.705	chlorobenzène

47.604	21.285	84.066	54.334	P-dichlorobenzène
Acide carboxylique aromatique				
50.72039	1.484	8.824	1.541	Acide benzoïque
11.757	4.678	5.395	6.349	Erreur Moyenne

5.6.2 Application de la stratégie de conception de nouveaux fluides

La stratégie de conception moléculaire décrite ci-dessus a été testée pour l'ensemble de groupes fonctionnels montrés par le tableau suivant. Le choix de ces groupes a été guidé par le fait qu'ils sont assez courants et présents dans un très grand nombre de composés.

Tableau 5.24: Ensemble de groupements fonctionnels sélectionnés.

=C=	CH<	CH ₂	CH ₃	OH	COOH	CHO	F	CN	=O	-NH	S	Cl
-----	-----	-----------------	-----------------	----	------	-----	---	----	----	-----	---	----

Des combinaisons de ces groupes selon les lois de la chimie ont donné un bon nombre de composés candidats pour être testés comme fluides supercritiques. Ces derniers sont montrés dans le tableau suivant :

Tableau 5.25: Combinaisons des groupes sélectionnés.

Groupes constituants	Composé
(CH ₃)-- N= (nonring) -CH=	CH ₃ NCHF
-CH ₂ -; -CH<; -OH; -F	F-CH ₂ CH-(OH) ₂
-CH ₂ -; -CH=; -OH; CHO	CHO-CH ₂ CH ₂ CH=CHOH
-CH ₂ -; -COOH; -OH	OH-CH ₂ -COOH
-CH ₃ -; -CH ₂ <; -CH<; -NH; =C=; =O	CO=CH-NH-NH-CH ₂ CH ₃
-CH ₂ -; -CHO; -CN	CHO-CH ₂ -CH ₂ -CN
-F; =N-; =O	F-N=O
-F; =N-; =O	NF ₂ -OF
CH≡; -C≡; -O-; -F	CHCOF
>C<; -F; -O-; -N<	CF ₃ -O-NF-CF ₃
-CH ₃ ; -CH ₂ -; -F; -N<	CH ₃ NFCH ₂ F
CH ₂ =; =O	CH ₂ =O
CH≡; -C≡; -F	F-CCH
-O-; -F	F-O-F
-NH<; -F	NHF ₂
=C=; =O; -N=; -F	FNCO
-CH ₃ ; >C<; -F	CH ₃ CF ₂ CH ₃
-CH ₃ ; =C<; =CH-; -F; -S-	CF ₂ CHSCH ₃
>C<; CH ₂ =; -N=; -F	CH ₂ NCF ₃
>CH-; >C<; -O-; -F; -Cl	CHF ₂ OCCLF ₂

Les propriétés nécessaires au calcul de solubilité dans les composés générés par combinaison de groupes sont montrées comme suit :

Tableau 5.26 : Estimation des propriétés critiques des nouveaux fluides conçus par les méthodes de Joback Et Constantinou).

Composé	T _{bj} (Joback)	T _{cj} (A T _{bj}) (Joback)	T _{bc} (Const)	T _{cj} (à T _{bc}) (Joback)	T _{cc} (Const)	P _c (bar)	V _c
CH ₃ NCHF	321.31	504.006	/	/	/	41.091	155.5
FCH ₂ CH(OH) ₂	581.12	773.148	/	/	/	68.755	261.5
CHOCH ₂ CH ₂ CHCHOH	459.00	635.189	/	/	/	47.694	331.5
OHCH ₂ COOH	483.05	670.476	/	/	/	66.209	190.5
COCHNHNHCH ₂ CH ₃	385.61	561.539	/	/	/	55.278	326.5
CHOCH ₂ CH ₂ CN	441.86	641.106	/	/	/	41.463	302.5
FNO	262.27	415.953	/	/	/	60.939	80.5
CO(NO) ₂	403.15	589.698	/	/	/	60.373	151.5
CHCOF	257.17	418.573	/	/	/	57.045	145.5
NF ₂ OF	232.27	360.575	/	/	/	53.124	125.5
FCOONF ₂	290.95	434.775	/	/	/	47.826	189.5
CF ₃ ONFCF ₃	268.65	389.994	/	/	/	34.359	287.5
CH ₃ OCHO	316.44	490.104	/	/	/	54.626	182.5
CH ₃ NFCH ₂ F	256.34	395.355	/	/	/	44.326	201.5
CH ₂ O	205.88	338.591	/	/	/	71.214	109.5
CHOCI	308.57	491.069	/	/	/	61.322	157.5
F-CCH	234.75	391.905	/	/	/	58.539	127.5
OF ₂	220.56	355.676	/	/	/	56.960	89.5
FOCHO	292.83	455.293	/	/	/	58.990	144.5
FOCOF	297.31	455.734	/	/	/	54.225	151.5
NHF ₂	248.31	393.382	/	/	/	59.629	106.5
FNCO	288.42	455.809	/	/	/	60.561	116.5
CH ₃ CF ₂ CH ₃	263.55	414.490	178.082	280.073	293.334	40.210	228.5
CH ₂ NCF ₃	309.14	473.985	187.668	287.741	374.453	37.135	181.5
CHF ₂ OCCLF ₂	298.62	448.045	332.476	498.840	464.132	38.245	269.5
CF ₂ CHSCH ₃	339.6	523.305	292.399	450.750	/	43.169	274.5
CH ₂ NCCICF ₂	347.3	532.892	/	/	/	37.499	212.5
CH ₃ CCIF ₂	278.1	439.499	210.827	333.184	339.104	43.396	221.5
CH ₃ Cl	259.51	428.093	/	/	/	54.788	140.5
CH ₂ ClF	259.18	417.062	/	/	/	51.313	158.5
CH ₂ F ₂	221.02	355.353	220.292	354.183	355.353	50.730	127.5
CHF ₃	219.85	349.250	263.331	418.324	392.249	48.158	139.5
CH ₃ F	221.75	364.910	130.899	215.407	213.716	54.145	109.5
CF ₄	216.33	342.999	169.865	269.328	253.065	45.964	152.5
Cl-F	236.3	390.891	/	/	/	59.172	102.5
CHClF ₂	258.01	410.210	227.668	361.969	/	48.697	170.5
CH ₂ CHF	241.31	391.217	209.739	340.034	340.241	50.086	146.5
CO=CH ₂	232.03	380.116	277.954	455.352	483.263	70.735	145.5
CO=NF	288.42	455.809	/	/	/	60.561	116.5
COFCH=CH ₂	318.06	489.404	/	/	/	47.826	208.5
NCIF ₂	248.01	394.039	/	/	/	55.114	138.5
CHO-S-F	339.19	530.764	/	/	/	62.196	180.5
FSH	261.73	438.041	/	/	/	69.560	107.5
SF ₂	266.92	433.492	/	/	/	59.999	125.5
CINO	300.43	476.866	/	/	/	61.708	111.5
NHO	237.87	380.989	/	/	/	91.049	88.5

CHCF	270.41	429.984	/	/	/	60.561	126.5
CO=CO	229.5	372.883	/	/	/	100.00	161.5
CH ₃ NF ₂	233.46	369.102	292.341	462.193	430.071	50.586	145.5
COF ₂	274.89	430.545	/	/	/	55.608	133.5
CH ₂ N(CF ₂ CH ₃)CH ₃	298.17	448.364	/	/	/	37.592	293.5
CF ₃ CF ₂ CH ₃	258.13	392.769	209.600	318.926	319.590	34.889	271.5
CH ₂ NCF ₂ CH ₃	332.75	508.295	204.338	312.138	394.480	34.930	219.5
CF ₃ -CClF ₂	272.68	416.740	237.975	363.699	359.793	37.454	264.5
CH ₃ -CF ₃	239.94	378.885	159.018	251.105	258.022		
CF ₃ -CF ₃	234.52	358.155	193.372	295.310	289.898		
CH ₃ CH ₂ CF ₃	263.07	405.274	231.205	356.176	368.492		

^a utilisant l'équation de Constantinou ; ^b utilisant l'équation de Joback

Dans ce tableau, deux méthodes différentes sont utilisées, la première est la méthode Joback, qui dépend de la température d'ébullition, et la seconde est la méthode Constantinou qui ne dépend pas de la température d'ébullition.

D'après les résultats obtenus, il apparaît que la température d'ébullition a un effet significatif sur la fiabilité des résultats de la température critique, de sorte que lors de l'utilisation de la température d'ébullition calculée par la méthode de Constantinou au lieu de Joback, dans la corrélation de la température d'ébullition, les résultats obtenus étaient proches de celles calculées par la méthode de Constantinou. Cela indique que la méthode Constantinou pour le calcul de la température d'ébullition est plus fiable que la méthode Joback.

L'organigramme de calcul de la solubilité d'un soluté dans un fluide supercritique est montré par la (figure 5.29) ci-dessous.

Afin de comparer la solubilité de certains composés dans des candidats générés par combinaison des groupes choisis, cinq ont été retenus sur la base de leurs propriétés critiques pas assez élevées, similairement au CO₂. Les solutés sont le Climbazole, l'Irgacure et le Triclocarbon et dont le choix est justifié par la disponibilité dans la littérature des résultats des valeurs de solubilités dans le CO₂ supercritique à différentes température [51].

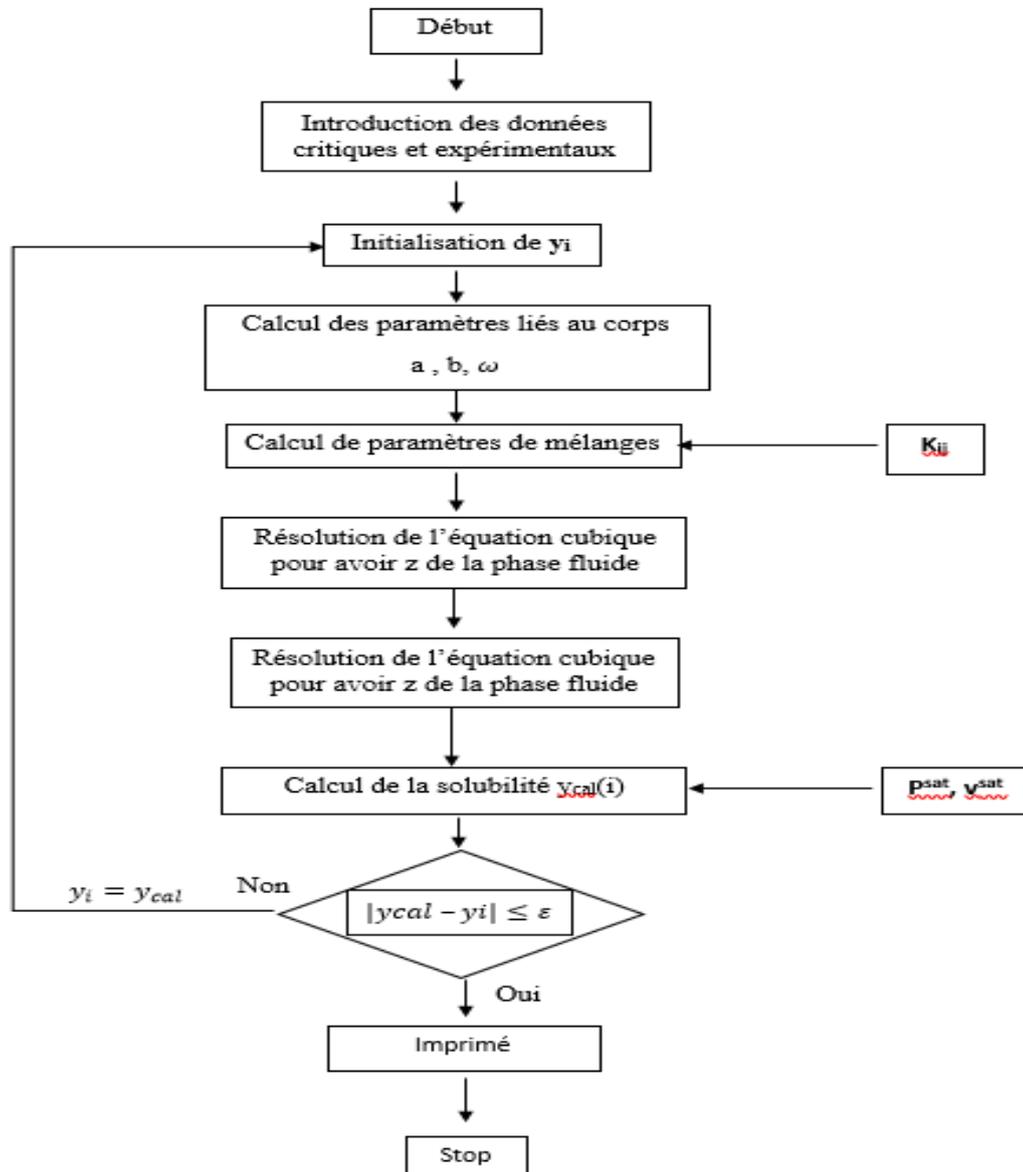
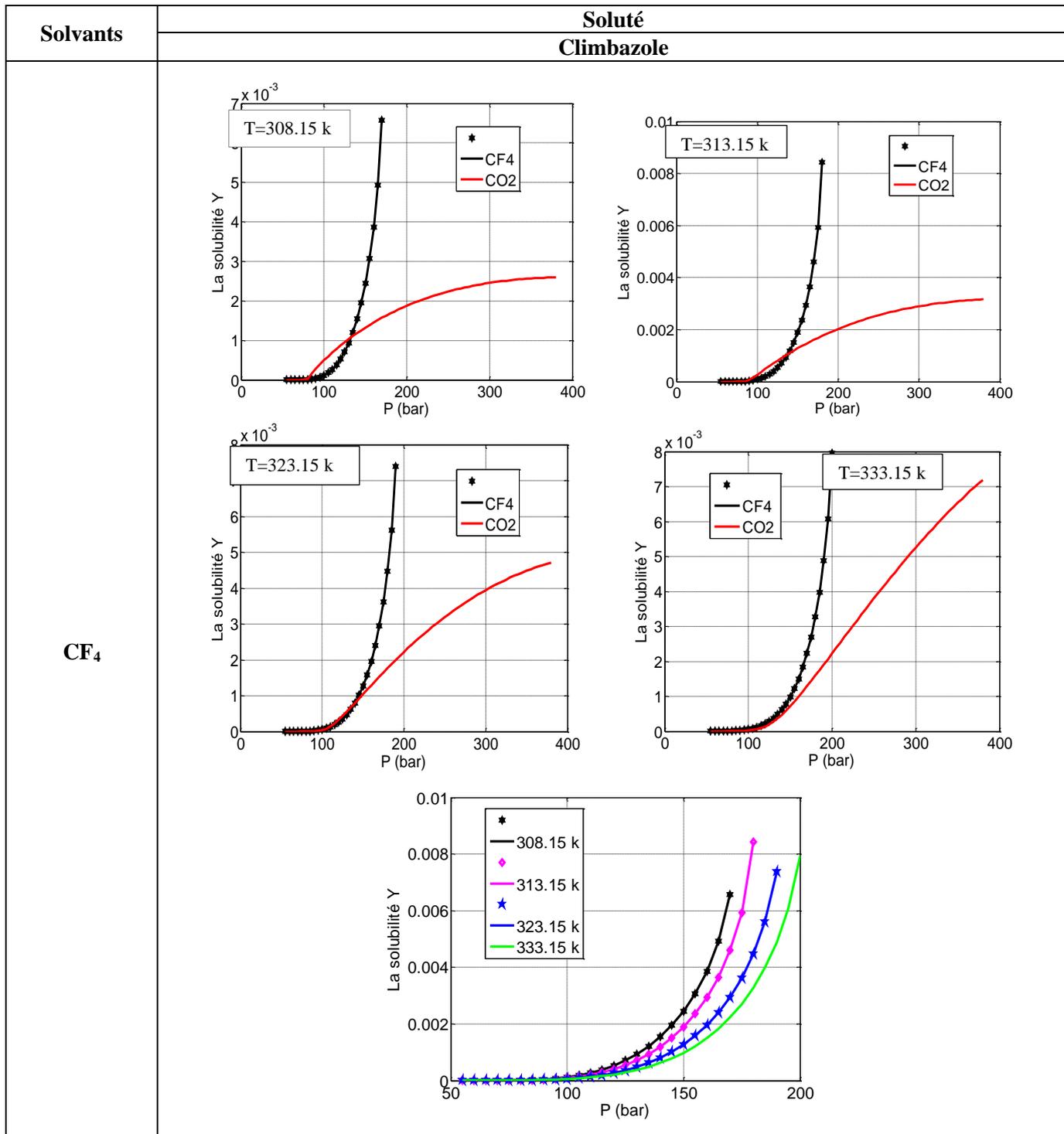
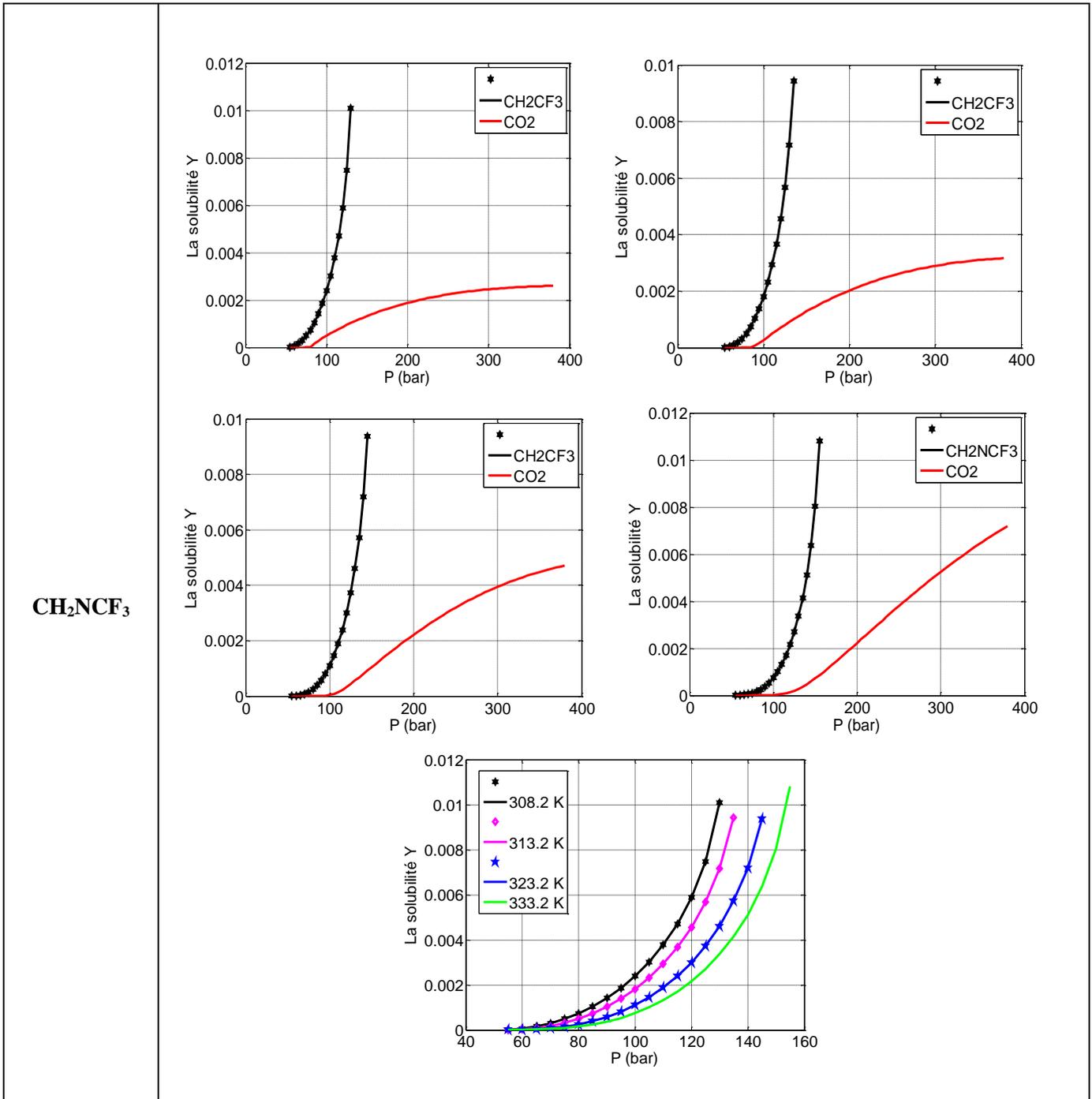


Figure 5.29 : Organigramme de calcul de la solubilité dans un fluide supercritique.

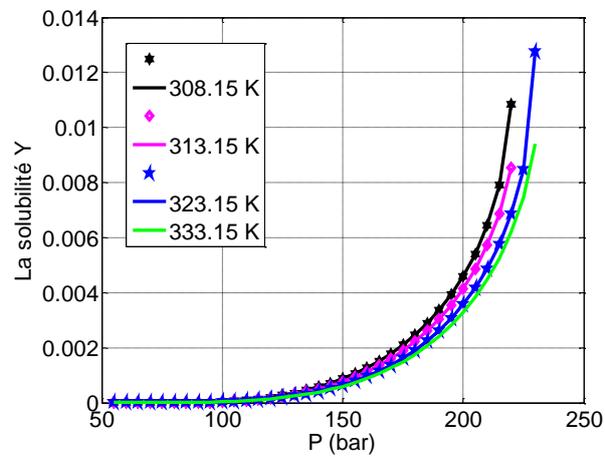
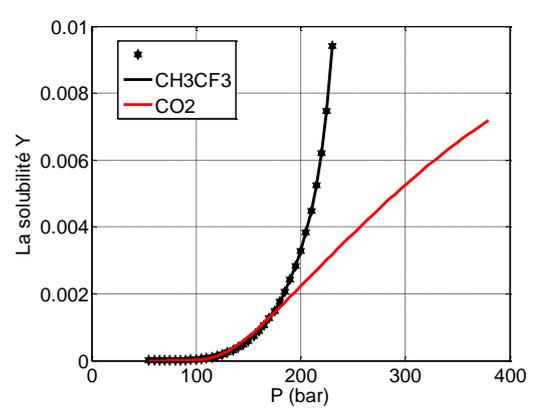
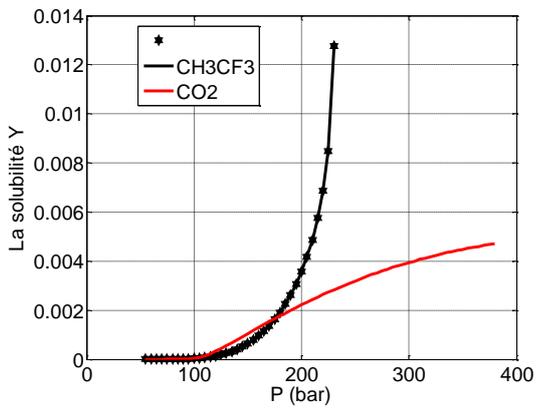
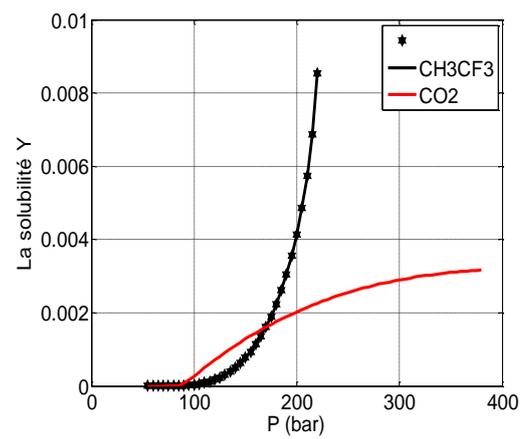
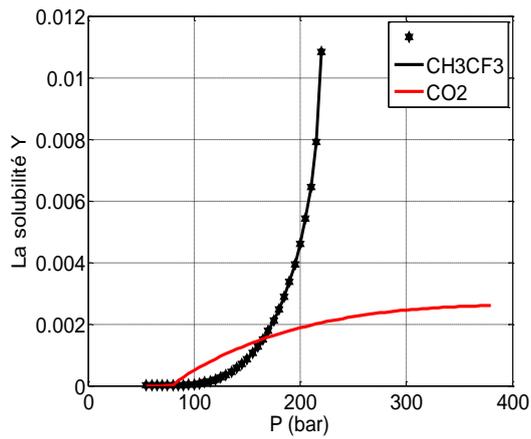
Les résultats concernant les solubilités des différents solutés retenus dans les différents fluides et CO₂ à l'état supercritique sont montrés dans le tableau (5.27) suivant:

Tableau 5.27: Solubilité des solutés considérés dans les fluides supercritiques générés par la méthode de conception moléculaire.

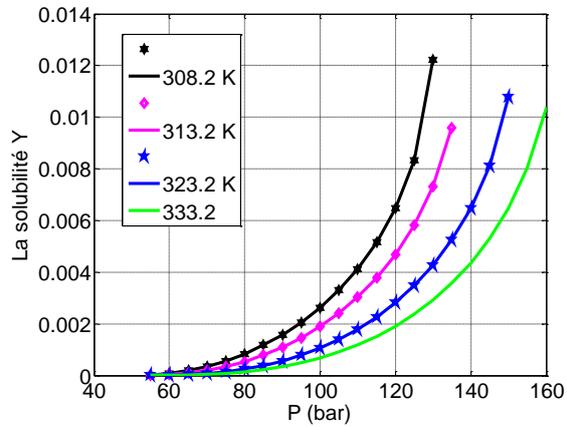
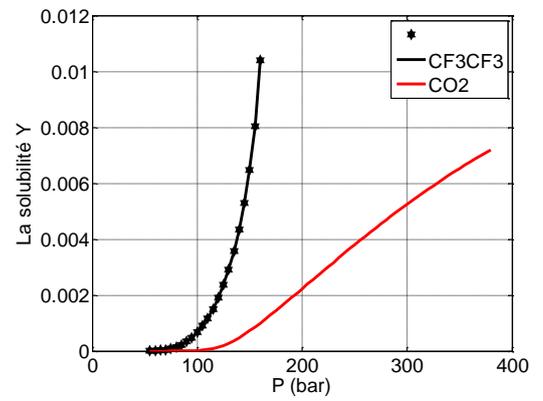
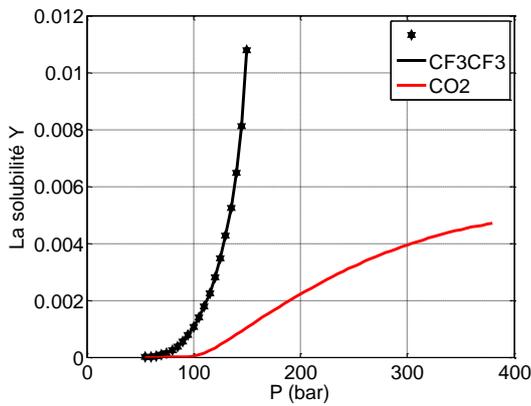
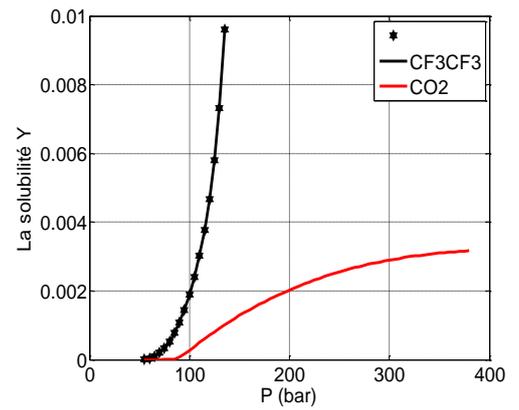
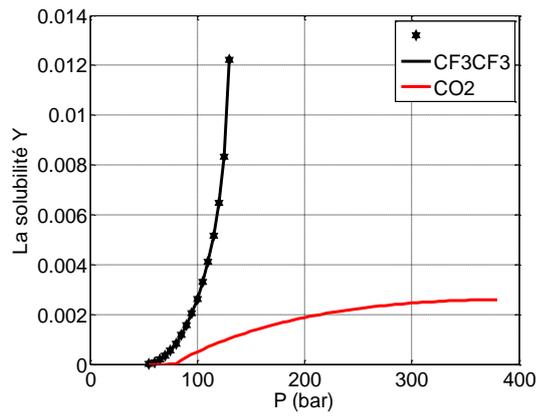




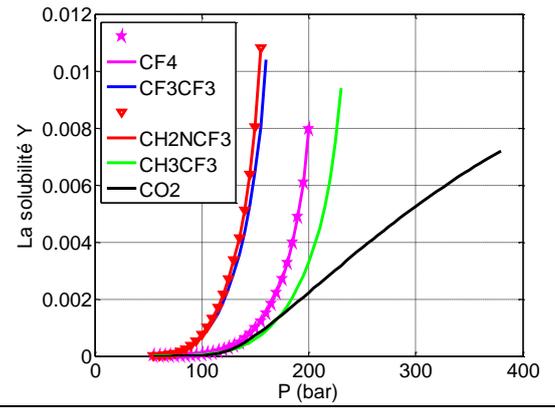
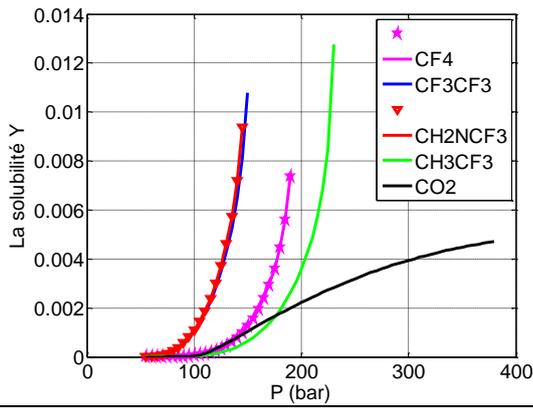
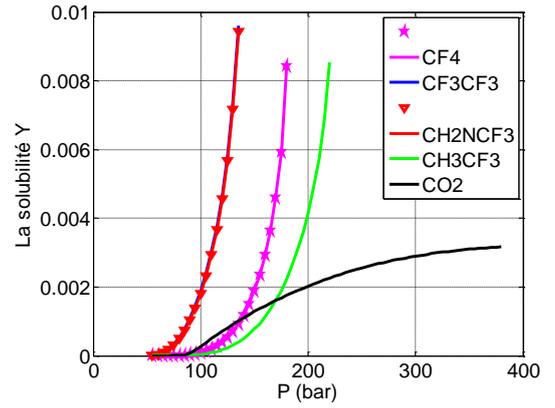
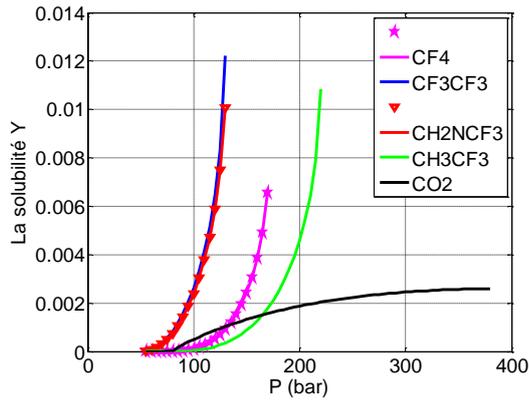
CH_3CF_3



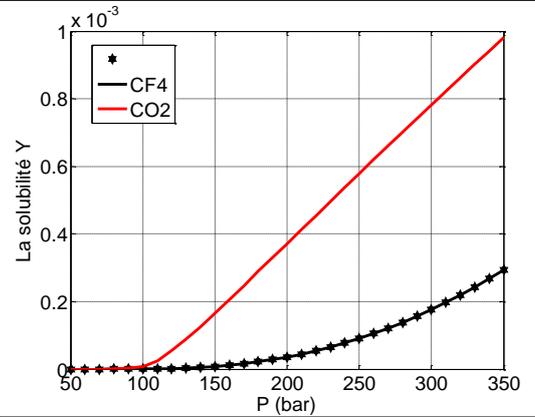
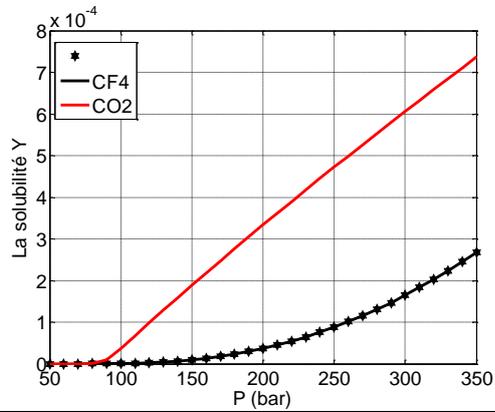
CF_3CF_3



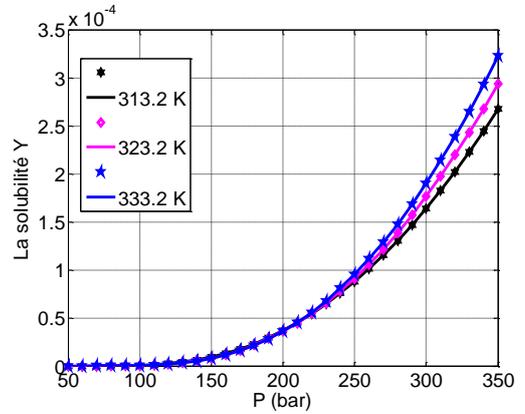
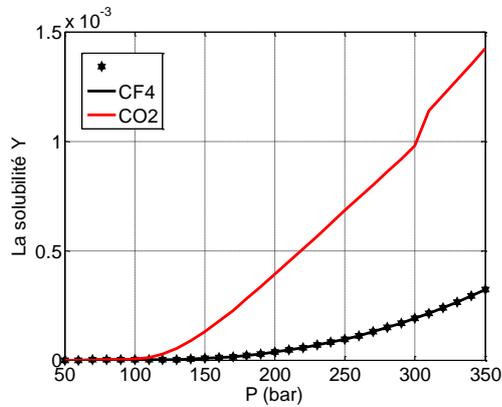
Comparaison des solubilités du Climbazole dans les différents fluides générés et dans CO_2 à l'état supercritique, à chaque température considérée

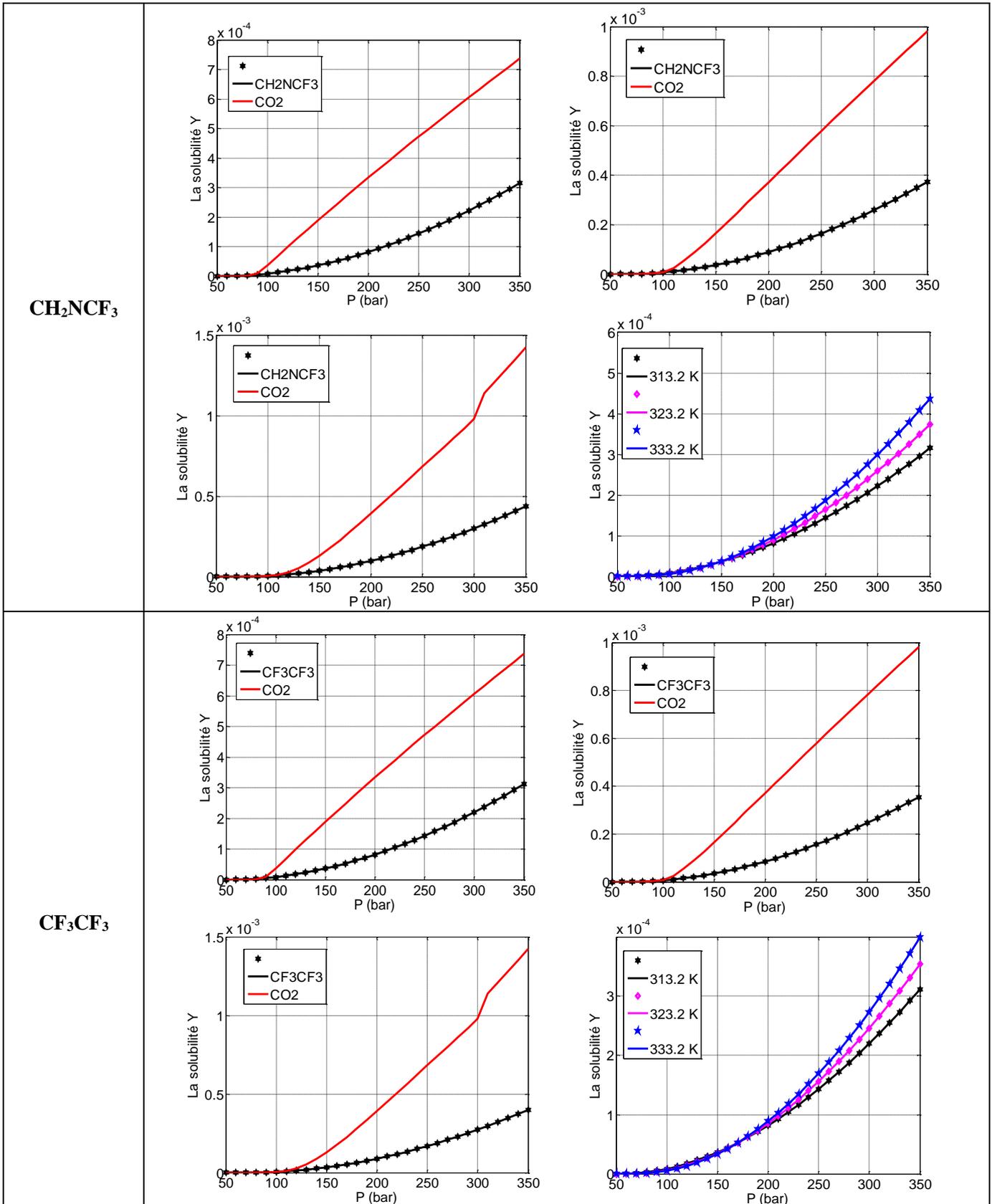


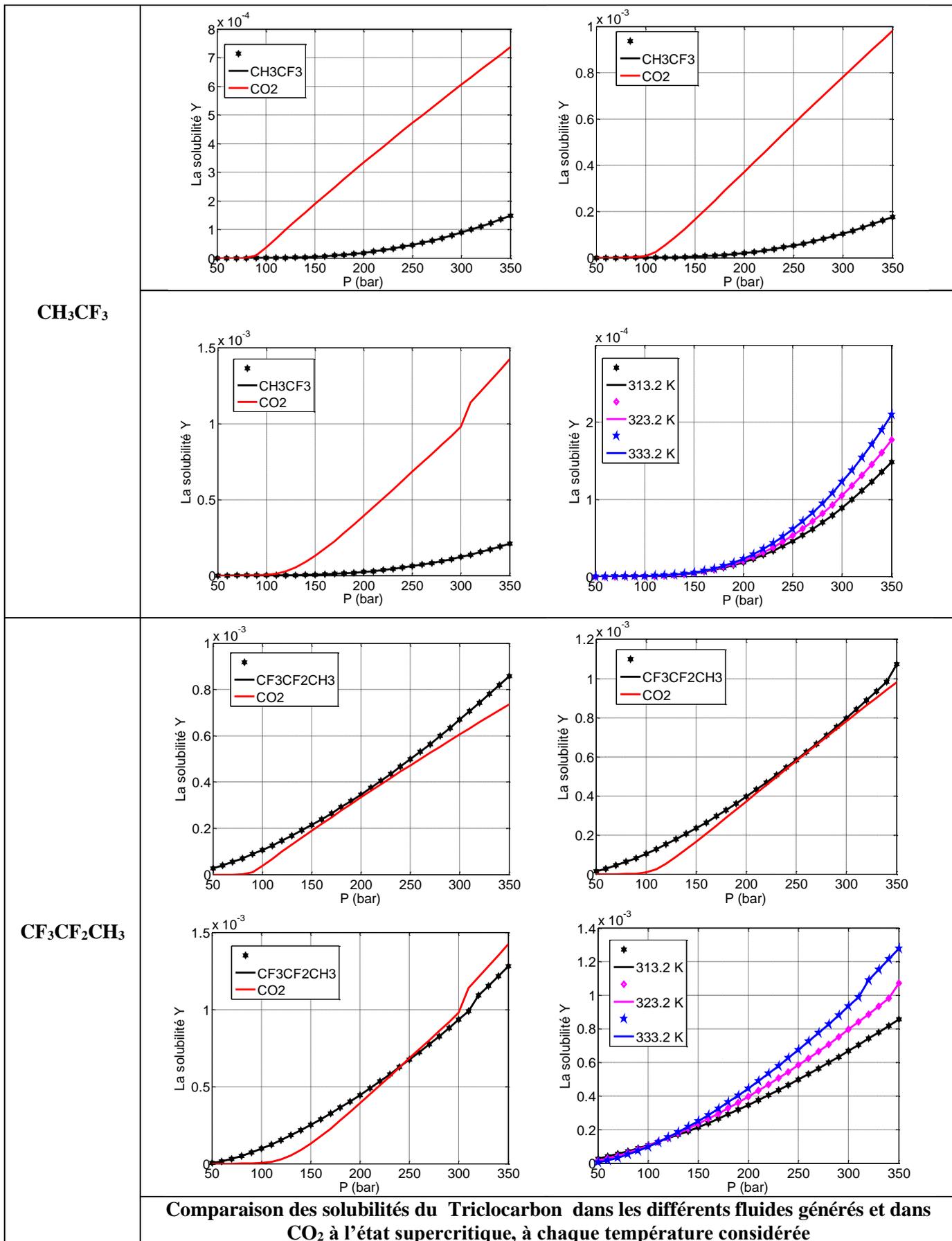
Tricarbon

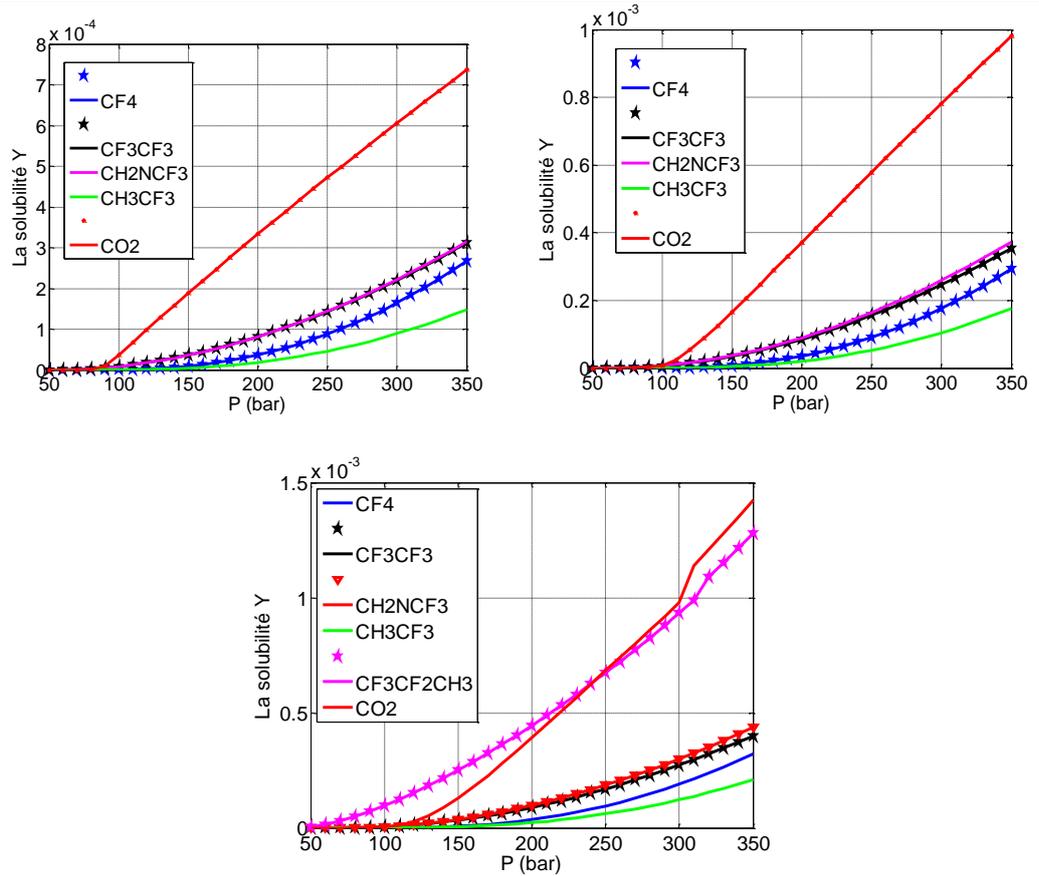


CF₄





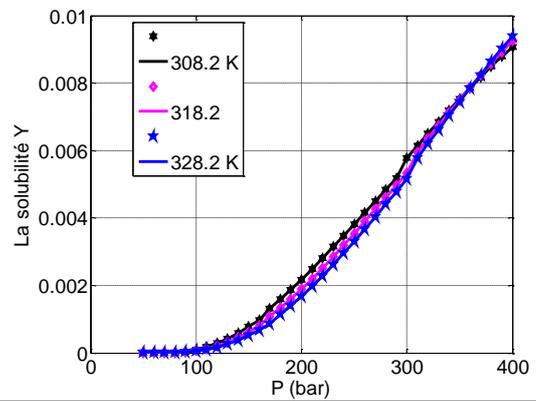
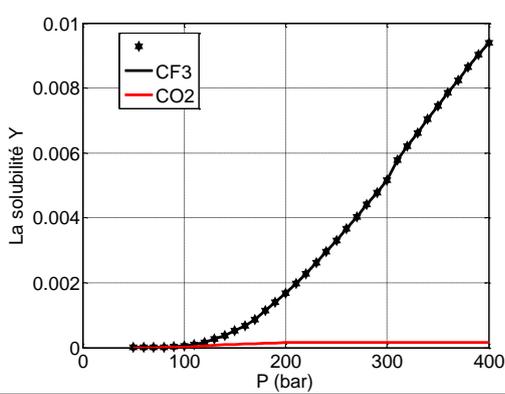
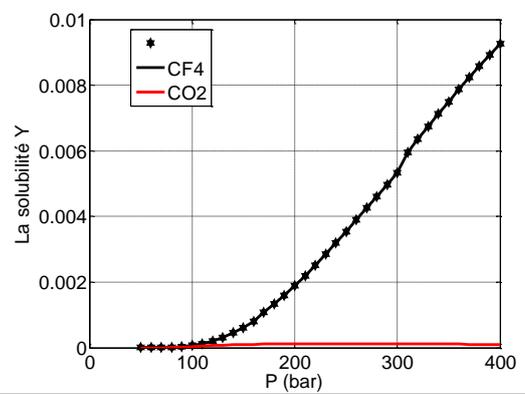
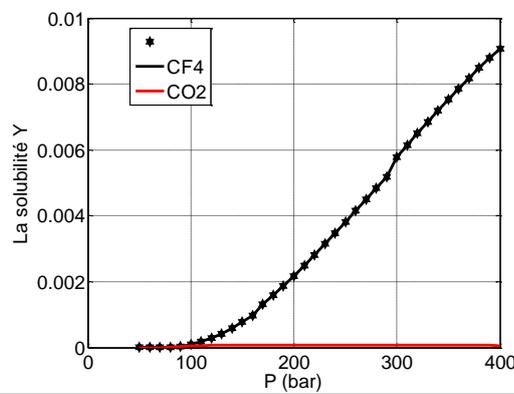


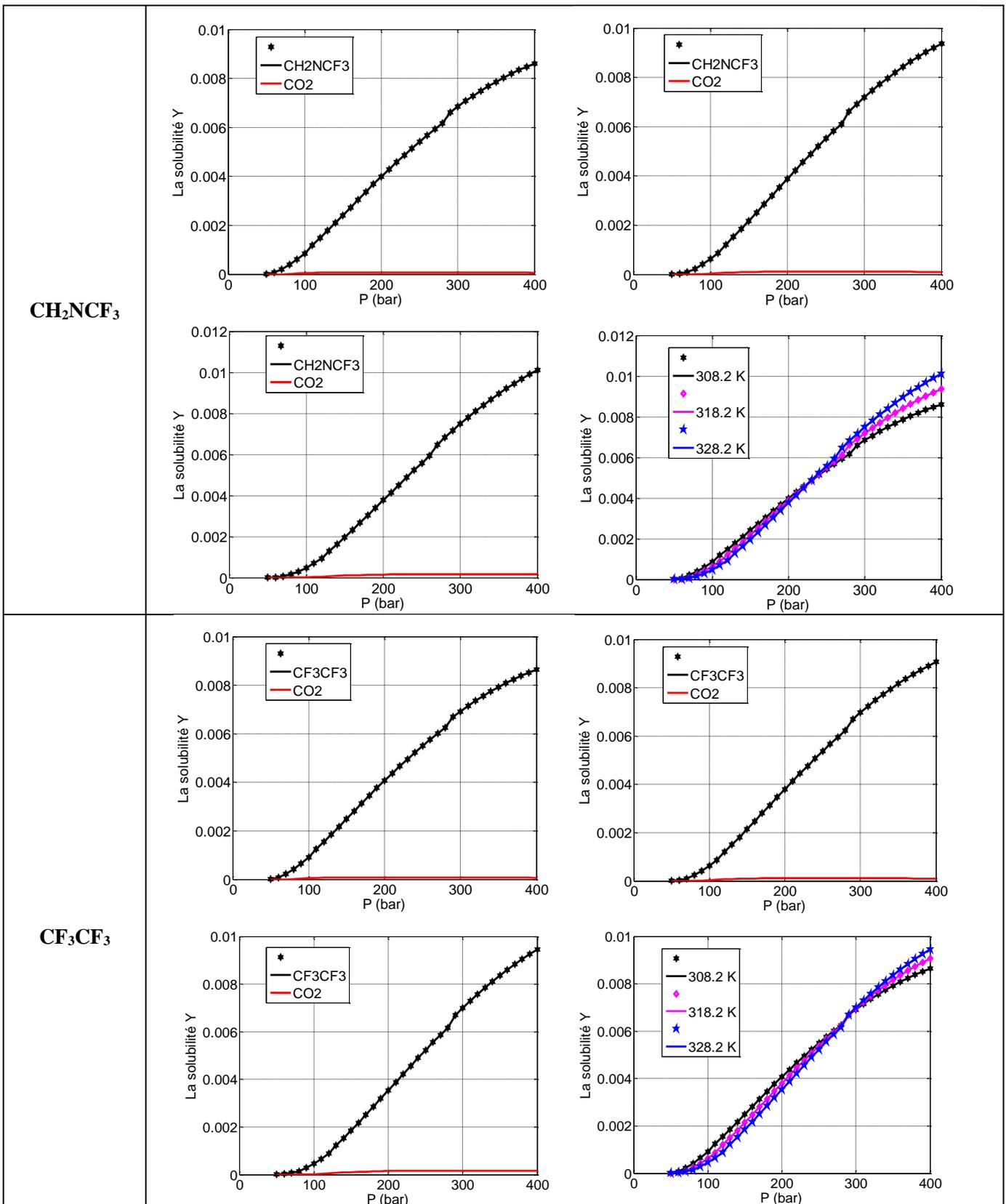


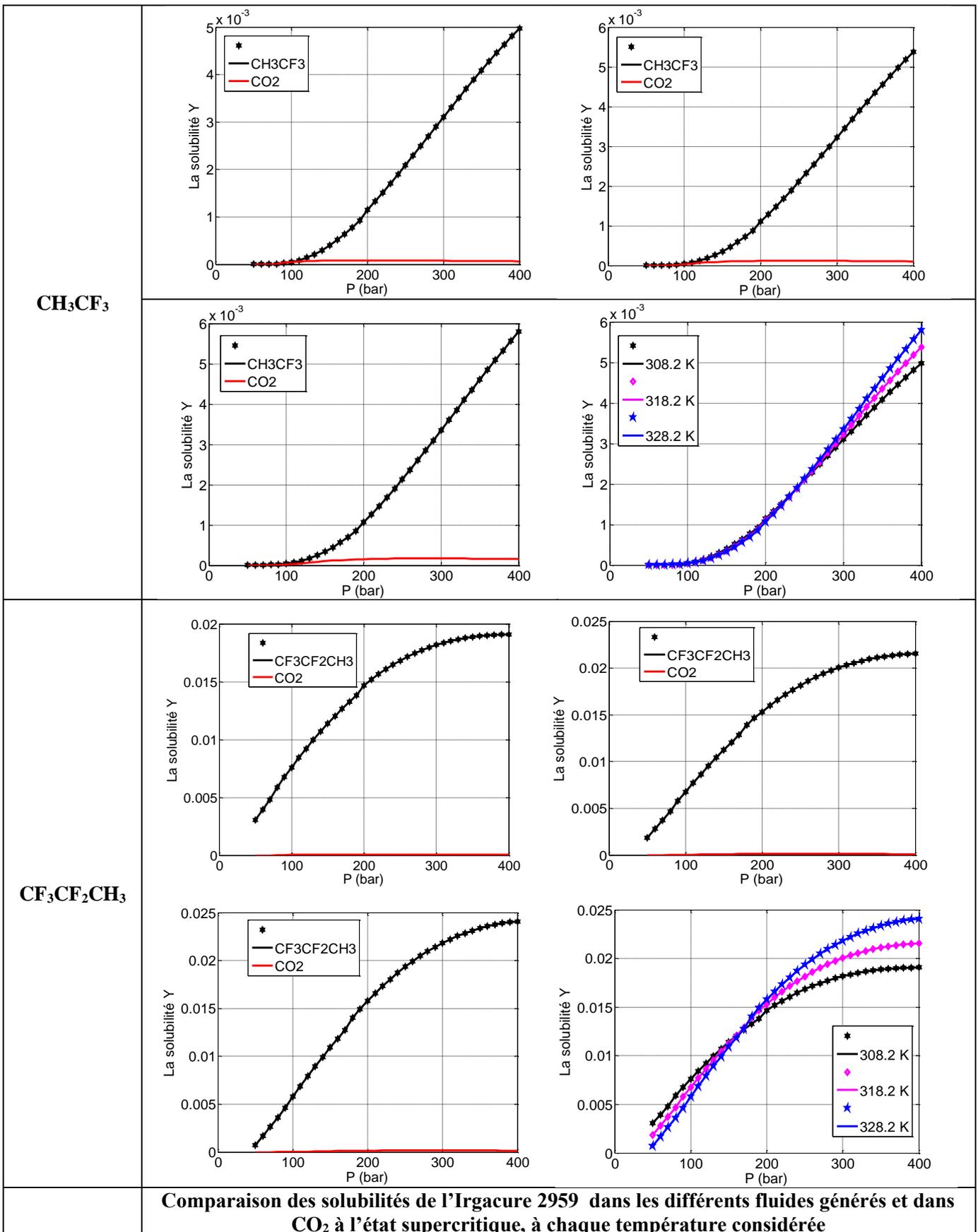
Comparaison de la solubilité de Triclorocarbonate dans le CO₂ et dans différents fluides supercritiques.

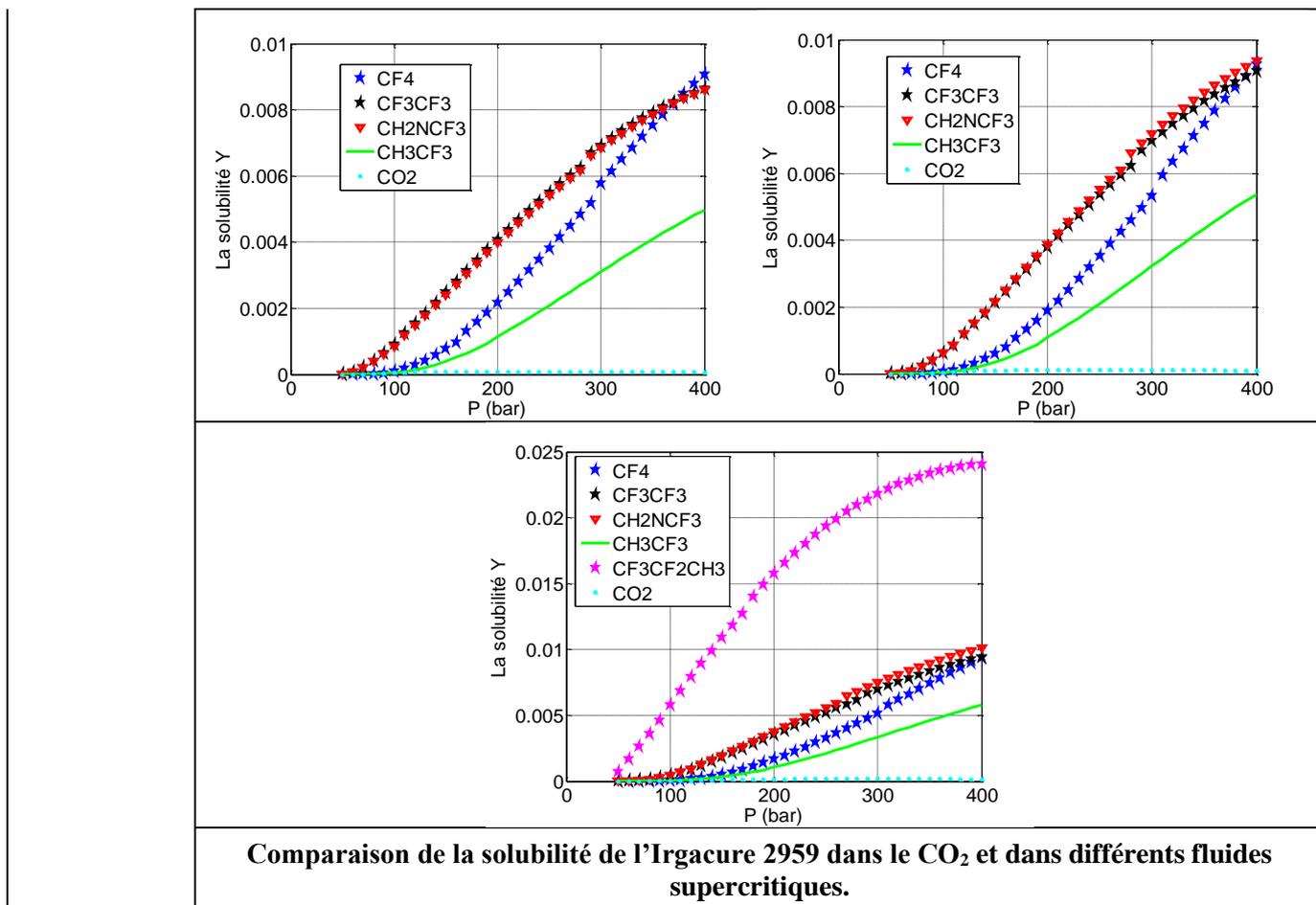
Irgacure 29 59

CF₄









Les figures ci-dessus montrent clairement que les solubilités du Climbazole dans les fluides à l'état supercritique générés par la méthode de conception est généralement bien supérieure à celles dans le CO₂ supercritique. A titre d'exemple les solubilités dans les fluides CF₃CF₃ et CH₂NCF₃ à l'état supercritique sont supérieures à celles dans CO₂ supercritique dans tout l'intervalle de pression et à toutes les températures considérées, contrairement aux cas des autres fluides CF₄ et CH₃CF₃ où les solubilités dans CO₂ supercritique sont légèrement supérieures pour les pressions comprises entre 100 et 200 bar et ce aux températures 308.2, 313.2 et 318.2K. A la température la plus élevée de 323.2K, les solubilités dans le CO₂ supercritique sont inférieures dans les fluides générés, d'où l'importance des valeurs des paramètres opératoires sur le critère de performance sur lequel est basé la conception moléculaire et qui est la solubilité dans le présent travail.

Les solubilités de l'Irigacure 2959 dans les fluides supercritiques générés ont montré une évolution similaire à celle du Climbazole mais elles sont toutes supérieures à celles dans le CO₂ supercritique. Cependant contrairement au Climbazole et à l'Irigacure 2959, les solubilités du Trichlorocarbon dans les fluides à l'état supercritique générés par la méthode

de conception moléculaire proposée, sont pratiquement toutes inférieures à celles dans le CO₂ supercritique, d'où la recherche d'autres combinaisons de groupements fonctionnels plus performants.

En conclusion les résultats obtenus pour le test de la méthode de conception moléculaire de nouveaux fluides supercritiques, se basant sur la solubilité comme critère de performance, peuvent être considérés comme encourageants. Ceci peut être vu comme un facteur stimulant le développement de cette approche qui pourrait aboutir à un outil numérique très important permettant à priori de cibler des extraits de composition sur mesure selon des applications bien spécifiques.

5.7 Optimisation du procédé d'extraction par CO₂ par rapport à la composition de l'extrait

Dans cette deuxième partie de ce chapitre, une autre approche est proposée concernant l'optimisation du procédé d'extraction par CO₂ supercritique, non pas par rapport aux paramètres opératoires, mais plutôt par rapport à la composition de l'extrait. En d'autres termes l'objectif est d'essayer d'atteindre une extraction sur mesure par rapport à l'objectif fixé. Ceci sera assez utile surtout lorsque des activités biologiques données sont ciblées, car ces dernières sont directement liées à un ou plusieurs constituants de l'extrait, comme à titre d'exemple la composition en polyphénols pour l'activité oxydante.

Le principe est basé sur le calcul de la solubilité de chaque constituant dans l'extrait, à différentes conditions opératoires surtout de température, de pression et de taille des particules. Ceci permettra la détermination des paramètres opératoires donnant une solubilité élevée, moyenne ou faible du constituant de l'extrait considéré, et ce selon l'objectif assigné.

La stratégie d'optimisation proposée est donc testée pour les cas des plantes considérées *Peganum harmala* et *Plantago ovata*, comme montré dans la section suivante, par rapport à quatre constituants communs tels que : Hexadecanoic acid, methyl ester, n-Propyle 9,12-octadécadienoate, 9-Octadecenoic acid, methyl ester et Methyl stéarate:

5.7.1 Optimisation de la composition des extraits du *Peganum harmala* et du *Plantago ovata*

Comme mentionné ci-dessus, le critère de performance pour l'optimisation de la composition des extraits est la solubilité qui est un paramètre clé dans le procédé d'extraction par CO₂ supercritique. Son calcul a été déjà décrit dans les sections précédentes.

5.7.1a Calcul les propriétés critiques et physiques

Comme précédemment, les propriétés physiques sont calculées par le biais des méthodes de contribution de groupes décrites auparavant d'où à priori un découpage de la molécule de chaque constituant en groupements fonctionnels pour avoir le nombre correspondant à chaque type, comme montré dans le tableau suivant :

Tableau 5.28: Décomposition des composés purs constituant l'huile de *Peganum harmala* et *Plantago ovata*.

Constituant		-CH3		-CH2		-CH=		-COO-		Σ
		Nombre	Contribution du groupe							
Acide hexadécanoïque, ester méthylique (C ₁₇ H ₃₄ O ₂)	Tb	2	23.58	14	22.88	---	24.96	1	81.10	448.58
	Tc		0.0141		0.0189		0.0129		0.0481	0.3409
	Pc		-0.0012		0		-0.0006		0.0005	-1.9e-3
n-Propyl 9,12-octadécadienoate (C ₂₁ H ₃₈ O ₂)	Tb	2	23.58	14	22.88	4	24.96	1	81.10	548.42
	Tc		-0.0012		0.0189		0.0129		0.0481	0.3925
	Pc		-0.0012		0		-0.0006		0.0005	-4.3e-3
Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)- (C ₁₉ H ₃₆ O ₂)	Tb	2	23.58	14	22.88	2	24.96	1	81.10	498.5
	Tc		0.0141		0.0189		0.0129		0.0481	0.3667
	Pc		-0.0012		0		-0.0006		0.0005	-3.1e-3
Methyl stéarate (C ₁₉ H ₃₈ O ₂)	Tb	2	23.58	16	22.88	---	24.96	1	81.10	494.34
	Tc		0.0141		0.0189		0.0129		0.0481	0.3787
	Pc		-0.0012		0		-0.0006		0.0005	-1.9e-3

Les valeurs calculées des propriétés critiques et physiques sont montrées dans les tableaux (5.29 & 30) suivants :

Tableau 5.29: Propriétés critiques des composés purs constituant l'huile de *Peganum harmala* et *Plantago ovata* utilisant la méthode de Joback.

Constituant	Tb (K)	Tc (K)	Pc (bar)
Acide hexadécanoïque, ester méthylique (C ₁₇ H ₃₄ O ₂)	646.78	811.767	12.354
n-Propyl 9,12-octadécadienoate (C ₂₁ H ₃₈ O ₂)	746.62	923.227	10.24
Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)- (C ₁₉ H ₃₆ O ₂)	696.7	867.193	11.223
Methyl stearate (C ₁₉ H ₃₈ O ₂)	692.54	859.197	10.842

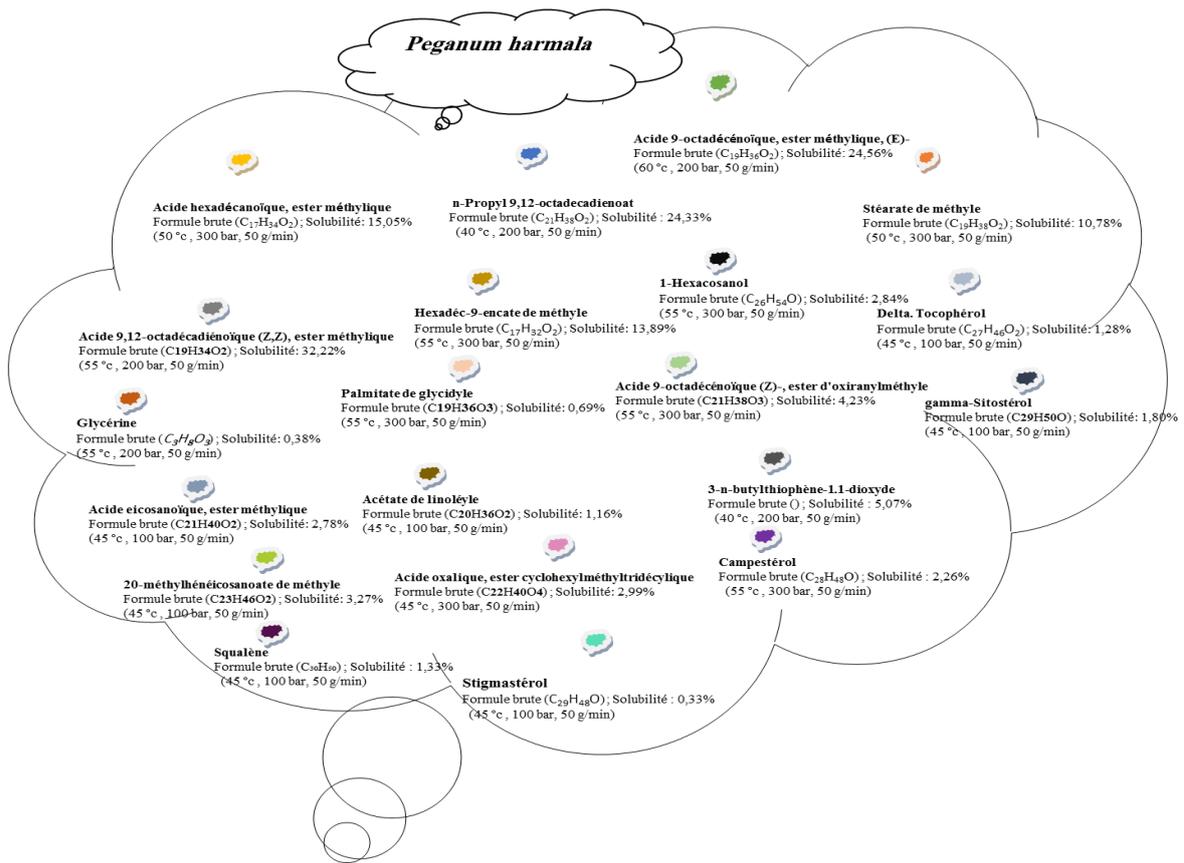


Figure 5.30: Profil d'acides gras des graines de *Peganum harmala* analysées par GC-MS représenté par une carte.

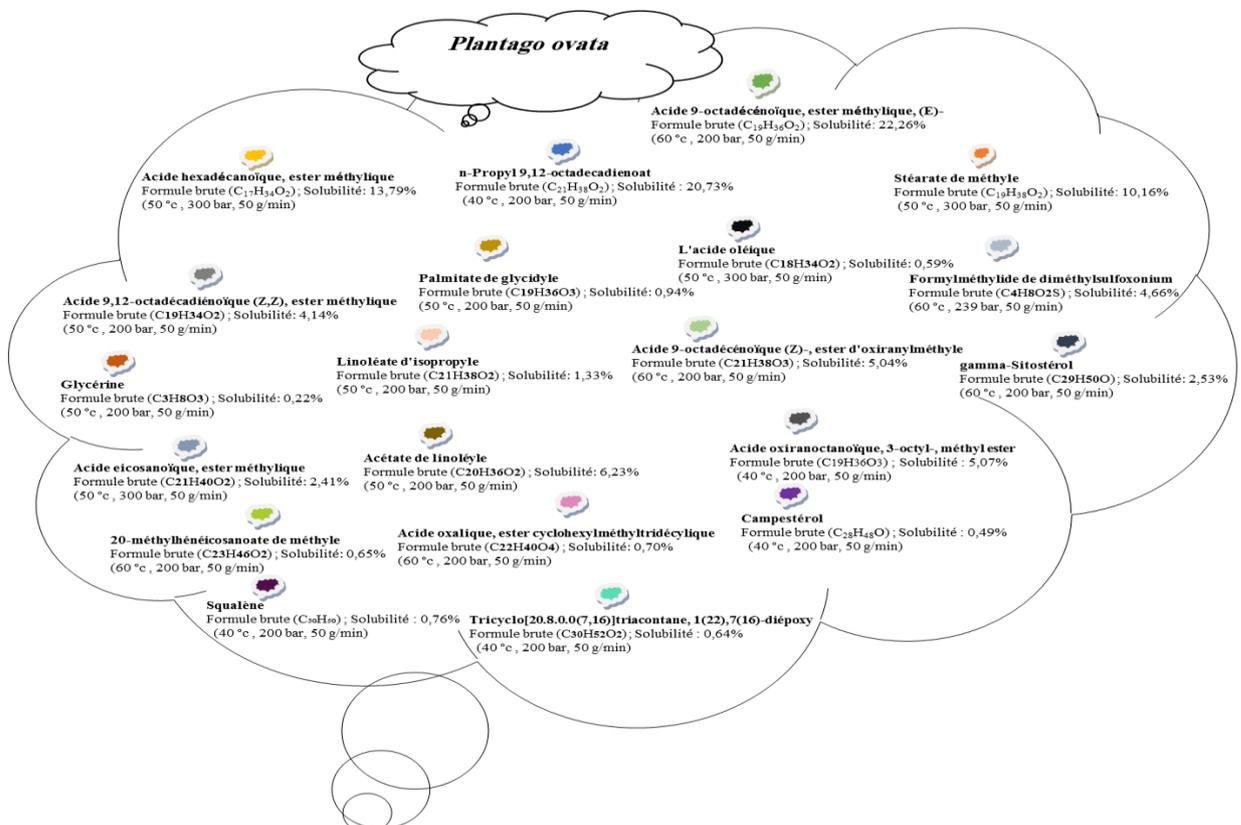


Figure 5.31: Profil d'acides gras des graines de *Plantago ovata* analysées par GC-MS représenté par une carte.

Tableau 5.30: Propriétés physiques des constituants purs constituant l'huile de *Peganum harmala* et *Plantago ovata*.

Constituant	T (K)	Vs (cm ³ /mol)	P ^{sat} (bar)	Facteur acentrique ω
Acide hexadécanoïque, ester méthylique (C ₁₇ H ₃₄ O ₂)	308	292.465	7.016582E-09	0.9243
	313	293.603	1.378940E-08	
	318	294.753	2.640930E-08	
	323	295.916	4.935371E-08	
	328	297.093	9.010565E-08	
	333	298.283	1.608970E-07	
n-Propyl 9,12-octadécadiénoate (C ₂₁ H ₃₈ O ₂)	308	390.317	1.471074E-11	0.924
	313	391.584	3.302419E-11	
	318	392.863	7.194245E-11	
	323	394.154	1.523100E-10	
	328	395.457	3.138054E-10	
	333	396.772	6.300063E-10	
Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)-(C ₁₉ H ₃₆ O ₂)	308	336.733	2.975530E-10	0.932
	313	337.928	6.274437E-10	
	318	339.135	1.286433E-09	
	323	340.354	2.568028E-09	
	328	341.585	4.997798E-09	
	333	342.829	9.494031E-09	
Methyl stearate (C ₁₉ H ₃₈ O ₂)	308	344.436	4.028225E-10	0.938
	313	345.676	8.439707E-10	
	318	346.929	1.719580E-09	
	323	348.195	3.411889E-09	
	328	349.474	6.600954E-09	
	333	350.766	1.246756E-08	

5.7.2 Calcul du paramètre d'interaction k_{ij} et des solubilités des différents constituants considérés dans les extraits issus des deux plantes

5.7.2a Calcul du paramètre d'interaction k_{ij} par optimisation

Le paramètre d'interaction k_{ij} a été calculé par le biais de la minimisation de la fonction objectif F définie par l'équation (5.9), utilisant la méthode Simplexe, et ce pour chaque ligne de données :

$$F = \sum_1^N (y_{exp} - y_{calc})^2 \quad (\text{Eq.5.9})$$

Avec y_{exp} et y_{calc} les solubilités expérimentales et calculées exprimées en fonction du k_{ij} sujet à des ajustements.

Une fois le k_{ij} déterminé, les solubilités peuvent être aisément calculées et les résultats sont montrés dans le tableau suivant:

Tableau 5.31: Paramètres d'interaction binaires et solubilités des composés purs constituant l'huile de *Peganum harmala*.

<i>Peganum harmala</i>						
Solute	T (°C)	P (bar)	k_{ij}	y_{exp} (%)	y_{calc} (%)	$k_{ij} = f(T)$
Acide hexadécanoïque, ester méthylique (C ₁₇ H ₃₄ O ₂)	35	200	1.337E-02	2.806E02	2.806E-02	$k_{ij} = 7.912216 \times 10^{-4}T^2 - 5.035276 \times 10^{-1}T + 80.043820$
	45	100	-6.648E-02	2.806E-02	2.806E-02	
	55	300	1.191E-02	2.708E-02	2.708E-02	
n-Propyl 9,12-octadecadienoate (C ₂₁ H ₃₈ O ₂)	35	200	-1.743E-02	4.209E0-2	4.209E0-2	$k_{ij} = 1.034554 \times 10^{-3}T^2 - 6.585397 \times 10^{-1} \times T + 104.674$
	45	100	-1.234E-01	4.041E0-2	4.041E0-2	
	55	300	-2.249E-02	3.678E0-2	3.678E0-2	
Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)-(C ₁₉ H ₃₆ O ₂)	35	200	-9.658E-03	4.616E0-2	4.616E0-2	$k_{ij} = 7.316945 \times 10^{-5}T^2 - 4.608139 \times 10^{-2}T + 7.242414$
	45	100	-1.221E-01	4.456E0-2	4.456E0-2	
	55	300	-1.318E-02	3.999E0-2	3.999E0-2	
Methyl stéarate (C ₁₉ H ₃₈ O ₂)	35	200	8.937E-03	1.713E0-2	1.713E0-2	$k_{ij} = 8.865356 \times 10^{-4}T^2 - 5.642868 \times 10^{-1}T + 89.711$
	45	100	-8.156E-02	1.752E0-2	1.752E0-2	
	55	300	5.252E-03	1.640E0-2	1.640E0-2	

Tableau 5.32: Paramètres d'interaction binaires et solubilités des composés purs constituant l'huile de *Plantago ovata*.

<i>Plantago ovata</i>						
Solute	T (°C)	P (bar)	k_{ij}	y_{exp} (%)	y_{calc} (%)	$k_{ij} = f(T)$
Acide hexadécanoïque, ester méthylique (C ₁₇ H ₃₄ O ₂)	40	200	1.644E-02	2.540E-02	2.540E-02	$k_{ij} = 5.87059 \times 10^{-5}T^2 - 3.778122 \times 10^{-2}T + 6.090754$
	50	300	1.217E-02	2.402E-02	2.402E-02	
	60	200	1.965E-02	1.866E-02	1.866E-02	
n-Propyl 9,12-octadecadienoate (C ₂₁ H ₃₈ O ₂)	40	200	-1.027E-02	2.876E02	2.876E02	$k_{ij} = 3.507309 \times 10^{-5}T^2 - 2.350407 \times 10^{-2} \times T + 3.910658$
	50	300	-2.214E-02	3.450E-02	3.450E-02	
	60	200	-2.700E-02	4.176E-02	4.176E-02	
Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)-(C ₁₉ H ₃₆ O ₂)	40	200	-1.762E-03	3.135E-02	3.135E-02	$k_{ij} = 2.99824 \times 10^{-5}T^2 - 2.016352 \times 10^{-2}T + 3.372282$
	50	300	-1.262E-02	3.762E-02	3.762E-02	
	60	200	-1.748E-02	4.083E-02	4.083E-02	
Methyl stéarate	40	200	1.854E-02	1.155E-02	1.155E-02	

(C19H38O2)	50	300	3.287E-03	1.642E-02	1.642E-02	k_{ij} $= 2.113629 \times 10^{-4}T^2$ $- 1.360155 \times 10^{-1}T$ $+ 21.88491$
	60	200	3.031E-02	7.133E-03	7.133E-03	

Il peut être constaté que la concordance entre les valeurs expérimentales et calculées, pour les deux plantes, est parfaite d'où la fiabilité de la méthode de minimisation Simplexe.

Les valeurs de k_{ij} obtenues dans l'intervalle de température considéré peuvent être exploitées en les calant sur un polynôme du deuxième degré en termes de la température pour obtenir la fonction $k_{ij} = f(T)$, ce qui permettra de calculer les solubilités du constituant correspondant à différentes conditions opératoires dans l'intervalle considéré, d'où une optimisation selon les objectifs visés.

A titre d'exemple pour les extraits issus de *Peganum harmala* montré dans le tableau 5.28 et supposant que la pression est de 300 bar et que l'objectif ciblé nécessite plutôt une faible présence du methyl stéarate. Dans ce cas d'après les résultats il faut opérer à 55°C. La disponibilité du k_{ij} à toute température dans l'intervalle fixé, permet de faire un balayage de ce dernier avec des pas de températures même assez réduits, ce qui permettra de localiser la solubilité du methyl stéarate la plus faible, en faveur de l'objectif assigné.

Par conséquent l'approche proposée mérite d'être encouragée et pourrait constituer un outil très important permettant aussi d'envisager des extractions sur mesure pour des applications bien définies.

5.7.2b Calcul du paramètre d'interaction k_{ij} à partir de la méthode de Jaubert

Alternativement le paramètre d'interaction k_{ij} peut être calculé selon une approche de contribution de groupes conçue pour l'équation d'état de Peng-Robinson et qui est exprimée comme suit:

$$k_{ij}(T) = \frac{-\frac{1}{2} \sum_{k=1}^{N_g} \sum_{l=1}^{N_g} (\alpha_{ik} - \alpha_{jk})(\alpha_{il} - \alpha_{jl}) A_{kl} \left(\frac{298.15}{T} \right)^{\left(\frac{B_{kl}}{A_{kl}} - 1 \right)} - \left(\frac{\sqrt{a_i(T)}}{b_i} - \frac{\sqrt{a_j(T)}}{b_j} \right)^2}{2 \sqrt{\frac{a_i(T) a_j(T)}{b_i b_j}}} \quad (\text{Eq.5.10})$$

Avec T est la température, a_i et b_i calculés par les équations (5.10a & b) et N_g est le nombre de groupes définis par la méthode, k et l sont deux groupes différents. α_{ik} représente la fraction de molécule i occupée par le groupe k, A_{kl} et B_{kl} représentent les paramètres d'interaction de groupes ou encore paramètres de contribution de groupes et ajustés sur les données expérimentales d'équilibre liquide vapeur de la littérature.

La contrainte majeure pour cette approche est une disponibilité de paramètres d'interaction A_k et B_k , très réduite, concernant certains groupes seulement, ce qui en fait du développement de la matrice de paramètres d'interaction, une perspective. Cependant afin de tester cette approche, l'ensemble de groupements fonctionnels : CH_3 , C, CH_{aro} , C_{aro} , Cl et O, figurent sur la matrice des paramètres d'interaction et donc sont disponibles d'où la sélection de cet ensemble pour générer par le biais de combinaisons un nombre de composés dont certains ont été considérés comme solvants et d'autres comme solutés, comme montré par les tableaux suivants:

Tableau 5.33: Composés sélectionnés comme solvants et leurs propriétés physiques.

Solvants	Tb (K)	Tc (K)	Pc (bar)	ω
C_2H_6	184.40	305.40	48.80	0.096
C_2H_4	169.10	282.30	50.40	0.084
C_2H_2	188.30	308.20	61.38	0.192
C_3H_8	230.90	369.80	42.50	0.153
C_3H_6	225.31	364.75	45.94	0.143
CCl_4	368.97	586.95	48.02	0.210
CO_2	194.54	304.15	73.8	0.229
CCl_2O	351.21	550.95	56.95	0.313
CH_3SH	285.34	475.32	64.00	0.151
C_2O_2	229.50	372.88	100.00	0.352
$COCCl_2$	314.25	506.69	64.20	0.252
C_2Cl_4	399.00	620.69	46.66	0.280

Tableau 5.34: Composés sélectionnés comme solutés et leurs propriétés physiques.

Méthode Soluté	Joback				Constantinou			
	Tb (K)	Tc (K)	Pc (bar)	ω	Tb (K)	Tc (K)	Pc (bar)	ω
Styrène	406	620.42	38.43	0.282	426.39	660.41	38.10	0.229
Naphtalène	474.06	711.77	38.96	0.359	484.16	739.01	38.10	0.323
Triphénylmethane	713.92	982.43	24.005	0.645	601.10	826.27	21.97	0.564
Anthracene	589.54	843.46	32.43	0.519	564.01	826.54	30.85	0.376

Afin d'éviter une discontinuité importante dans le texte, il a été jugé pratique de ne présenter que deux échantillons de résultats concernant les solubilités de deux solutés tels que le naphtalène et l'anthracène dans différents solvants tels que CO_2 , C_2O_2 , CH_3SH et $COCCl_2$ à l'état supercritique, comme montré par les tableaux (5.35 & 5.36). Tous les autres résultats sont insérés en annexe.

Tableau 5.35: La solubilité du Naphtalène dans CO_2 , C_2O_2 , CH_3SH et $COCCl_2$ supercritiques.

Soluté	Naphtalène
--------	------------

Solvant	CO ₂			C ₂ O ₂		CH ₃ SH	COCCl ₂
T (°C)	380	480	510	380	480	480	510
k _{ij}	0.114	0.118	0.120	0.0333	0.0712	0.0101	0.096
P (Bar)	Solubilité			Solubilité		Solubilité	
100	0.0038250	0.0315690	0.0558758	0.9398570	0.0461546	Insoluble	Insoluble
110	0.0045415	0.0328227	0.0574787	0.9389696	0.0521132		
120	0.0054396	0.0346531	0.0597087	0.9381124	0.0606017		
130	0.0065554	0.0367029	0.0630345	0.9372896	0.0778913		
140	0.0079277		0.0668379	0.9365014			
150	0.0098897		0.0720509	0.9357452			
160	0.0121305		0.0782560	0.9350176			
170	0.0148795		0.0878034	0.9343263			
180	0.0188910		0.1023431	0.9336587			
190	0.0242274			0.9330259			
200	0.0327878			0.9324211			

Tableau 5.36 : La solubilité de l'antracène dans CO₂, C₂O₂, CH₃SH et COCCl₂ supercritiques.

Soluté	Anthracene						
Solvant	CO ₂			C ₂ O ₂		CH ₃ SH	COCCl ₂
T (°C)	380	480	510	380	480	480	510
k _{ij}	0.114	0.122	0.125	0.0204	0.0880	0.00476	0.125
P (Bar)	Solubilité			Solubilité		Solubilité	Solubilité
100	0.0003505	0.0051211	0.0100398	0.0046446	0.0074553	0.9297230	0.9524363
110	0.0004439	0.0054025	0.0103558	0.7977752	0.0082813	0.9260430	0.9491363
120	0.0005639	0.0057341	0.0107517	0.7926092	0.0092832	0.9224240	0.9459074
130	0.0007161	0.0061144	0.0113344	0.7874776	0.0106589	0.9188687	0.9427448
140	0.0009055	0.0065434	0.0119044	0.7824200	0.0122149	0.9153761	0.9396498
150	0.0011855	0.0070211	0.0125492	0.7774129	0.0141250	0.9119433	0.9366202
160	0.0014918	0.0075485	0.0132691	0.7724570	0.0164868	0.9085698	0.9336500
170	0.0018580	0.0081267	0.0140657	0.7675547	0.0198844	0.9052526	0.9307448
180	0.0022869	0.0087567	0.0149415	0.7627054	0.0240839	0.9019889	0.9278985
190	0.0027784	0.0096171	0.0158997	0.7579045	0.0316810	0.8987828	0.9251115
200	0.0033306	0.0104107	0.0169443	0.7531539	0.03946093	0.8956305	0.9223800
210	0.0039395	0.0112749	0.0180794	0.7484537	0.04914804	0.8925278	0.9197052
220	0.0045996	0.0122137	0.0193103	0.7438002	0.060883473	0.8894772	0.9170835
230	0.0053045	0.0132315	0.0209927	0.7391969	0.0758853059	0.8864751	0.9145185
240	0.0063060	0.0143329	0.0225507	0.7346407	0.0928823106	0.8835235	0.9120026
250	0.0071712	0.0155223	0.0242574	0.7301273	0.1178793457	0.8806180	0.9095377
260	0.0080795	0.0171289	0.0261283	0.7256629	0.1478764350	0.8777612	0.9071233
270	0.0090251	0.0186259	0.0286574	0.7212399	0.18735515	0.8749471	0.9047576
280	0.0100025	0.0202608	0.0311120	0.7168613	0.23707355	0.8721790	0.9024414
290	0.0110063	0.0220472	0.0338662	0.7125276	0.2978679581	0.8694547	0.9001694
300	0.0124790	0.0244867	0.0377610	0.7082358	0.376652217	0.8667719	0.8979446
310	0.0136380	0.0268282	0.0424910	0.7039879	0.47624916	0.8641305	0.8957634
320	0.0148269	0.0294451	0.0494383	0.6997786	0.598598482	0.8615338	0.8936275
330	0.0160417	0.0332347	0.8920128	0.6956099	0.8572406	0.8589722	0.8915341
340	0.0178256	0.0378835	0.8899902	0.6914821	0.8546672	0.8564533	0.8894834

Les résultats obtenus montrent que dans l'intervalle de pression allant de 100 à 200 bar, à la température de 380°C, la solubilité du Naphtalène dans le C₂O₂ supercritique est nettement meilleure, même incomparable avec celle dans le CO₂ supercritique qui est le fluide classique le plus souvent utilisé.

Les résultats obtenus concernant l'antracène montrent de très grandes différences dans les solubilités obtenues par le biais des fluides supercritiques issus des différentes combinaisons des groupes sélectionnés, comparativement aux valeurs de solubilité dans le CO₂ supercritique. Par conséquent l'utilité et même la nécessité d'avoir ce genre d'outils pour pouvoir identifier de nouveaux fluides utilisés comme solvants dans l'extraction supercritique et plus performants que le CO₂ à l'état supercritique dans des intervalles surtout de pression et de température bien précis, est un facteur très motivant et encourageant méritant d'être développé dans une large mesure. Cependant il faut noter que la sélection finale d'un fluide dépend aussi d'autres facteurs qui peuvent être d'ordre économique, environnemental ou autres.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

La stratégie de conception de nouveaux fluides a été basée sur le concept de contribution de groupes ce qui a permis de calculer toutes les propriétés physiques nécessaires pour le calcul du paramètre clé qui est la solubilité du soluté dans le solvant supercritique candidat et la résolution et la quantification de problème combinatoire de groupements fonctionnels sélectionnés au préalable.

La solubilité des composés considérés dans le fluide supercritique a été déterminée à l'aide d'un modèle thermodynamique basé sur le calcul d'un équilibre de phases à haute pression, donc faisant intervenir une équation d'état couplée à une règle de mélange. L'équation cubique de Peng-Robinson et la règle de mélange de van der Waals ont été utilisées de par leur fiabilité montrée dans la grande majorité des travaux menés et décrits dans la littérature.

Le problème de la non disponibilité du paramètre d'interaction binaire k_{ij} dans certains cas, a été résolu par optimisation par le biais de la méthode Simplex, dans laquelle des corrélations polynomiales prédictives ont été obtenues dans les intervalles considérés de température.

Finalement la méthode a bien permis d'identifier certains fluides tels que CF_4 , CF_3CF_3 , CF_3CH_3 , CH_2NH_2 et qui ont été testés comme solvant à l'état supercritique en calculant la solubilité de solutés donnés dont les résultats dans le CO_2 sont disponibles dans la littérature afin de pouvoir comparer les deux solvants critiques (nouveaux fluides et CO_2). Les résultats obtenus en considérant trois solutés (Climbazole, Irgacure et Triclocarbon) dont les solubilités dans CO_2 supercritique sont rapportées dans la littérature, ont montré de nettes différences en faveur des fluides issus de la méthode de conception moléculaire, ce qui est très encourageant pour développer encore plus cette stratégie.

Les résultats expérimentaux obtenus dans le cadre de cette étude permettent de conclure que les deux plantes naturelles locales considérées, en l'occurrence *Peganum harmala* et *Plantago ovata* ont montré un potentiel important en tant que sources très abondantes de molécules bioactives à grande valeur thérapeutique.

La méthode d'optimisation utilisant Box Benkhen en multi-réponse a été utilisée pour les graines des deux *Peganum harmala* et *Plantago ovata* et a montré la capacité de manipuler les conditions opératoires selon des objectifs bien ciblés, tels que des rendements d'extraction significativement élevés.

Les résultats ont permis d'étudier les effets des conditions opératoires sur les performances d'extraction de l'huile et la teneur en polyphénols des extraits sélectionnés, ce qui a en effet permis de déterminer les conditions opératoires menant aux valeurs optimales des rendements d'extraction pour chaque cas: une pression, température et taille de particules de 300 bar, 328 K et 0.5 mm, respectivement pour les graines de *Peganum harmala* et 239 bar, 333 K et 0.25 mm, respectivement pour les graines de *Plantago ovata*. Ceci a permis de confirmer que généralement un effet significatif sur le rendement d'extraction est observé de la part de la pression et de la taille de particule.

Concernant l'optimisation de la teneur en polyphénols et flavonoïdes, il a été observé que des résultats optimaux étaient enregistrés à basse température et pression. Pour les graines de *Peganum harmala*, les conditions sont: 0.9 mm, 308 K et 100 bar pour les polyphénols, 170.7 bar pour les flavonoïdes. Pour les graines de *Plantago ovata*, les conditions sont: 0.25 mm, 313 K et 100 bar pour les polyphénols, 0.75 mm, 219 K et 170.7 bar pour les flavonoïdes.

Les activités biologiques ont été évaluées sur les extraits de deux plantes, parmi lesquelles l'activité antibactérienne et antifongique. A travers ce travail, l'impact sur la qualité de l'huile extraite des conditions opératoires a été constaté avec des résultats variant d'un extrait à l'autre. Les résultats obtenus à l'aide de l'extraction supercritique et ceux par Soxhlet, ont été comparés, confirmant la contrainte due à l'utilisation de CO₂ supercritique qui est un solvant non polaire, d'où une affinité faible pour les composés polaires. Ceci explique les déviations assez significatives entre les résultats obtenus par les deux méthodes, ce qui se répercute sur les valeurs des rendements d'extraction et aussi les activités biologiques. Ceci est un facteur motivant pour chercher des substituts au CO₂ ce qui conforte l'initiative prise dans le cadre de ce travail pour la proposition d'une stratégie de conception moléculaire et de test numériquement de nouveaux fluides à l'état supercritique comme agents d'extraction de substances bioactives à partir des plantes naturelles locales.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] Herzi N., Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO₂-supercritique et des techniques conventionnelles, doctorat, Toulouse, 2013 p. 193.
- [2] Penchev P. I., Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions, DOCTORAT, TOULOUSE, 2010.
- [3] Hrnčič M. K., Cör D., Verboten M. T., et Knez Ž., Application of supercritical and subcritical fluids in food processing, *Food Qual. Saf.*, 2(2018) 59-67. doi: 10.1093/fqsafe/fyy008.
- [4] Fukushima Y., Application of Supercritical Fluids, Toyota CRDL, 35 (1999) 1-9.
- [5] Prajapati D. et Gohain M., Recent Advances in the Application of Supercritical Fluids for Carbon—Carbon Bond Formation in Organic Synthesis, *ChemInform*, 60 (2004) 815-833. doi: 10.1002/chin.200421232.
- [6] McHugh MetKrukoniš V., *Supercritical fluid extraction: principles and practice*. Elsevier, 2013.
- [7] Raventós M., Duarte S., et Alarcón R., Application and Possibilities of Supercritical CO₂ Extraction in Food Processing Industry: An Overview, *Food Sci. Technol. Int.* 8 (2002) 269-284. doi: 10.1106/108201302029451.
- [8] Marsal A., a clean degreasing industry, *J. Supercrit. Fluids*, 16(2000) 217-223.
- [9] Sahena F. *et al.*, « Application of supercritical CO₂ in lipid extraction – A review », *J. Food Eng.*, 95 (2009) 240-253. doi: 10.1016/j.jfoodeng.2009.06.026.
- [10] Palmer M. V. et Ting S. S. T., « Applications for supercritical fluid technology in food processing », *Food Chem.*, 52 (1995) 345-352. doi: 10.1016/0308-8146(95)93280-5.
- [11] NOVELLA A., « Fractionnement au CO₂ supercritique en colonne à garnissage: application », Doctorat Toulouse (2020) p. 276.
- [12] Ely J. F. et Baker J. K., A review of supercritical fluid extraction, (1983) p. 88.
- [13] Mohamed A. K.A., Abdulmir A., A. S., et Abas H. A., Review on Supercritical Fluid Extraction as New Analytical Method, *Am. J. Biochem. Biotechnol.*, 4 (2008) 345-353. doi: 10.3844/ajbbsp.2008.345.353.
- [14] Donelian A., Carlson L. H. C., Lopes T. J., et Machado R. A. F., Comparison of extraction of patchouli (*Pogostemon cablin*) essential oil with supercritical CO₂ and by steam distillation, *J. Supercrit. Fluids*, 48 (2009) 15-20. doi: 10.1016/j.supflu.2008.09.020.
- [15] Bimakr M., Rahman R., Taip F., Adzahan N., Sarker Md., et Ganjloo A., Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Seed Oil from Winter Melon (*Benincasa hispida*) and Its Antioxidant Activity and Fatty Acid Composition, *Molecules*, 18 (2013) 997-1014.

doi: 10.3390/molecules18010997.

[16] Piggott M., Ghisalberti E. and Trengove R., Western Australian sandalwood oil: extraction by different techniques and variations of the major components in different sections of a single tree, *Flavour and Fragrance Journal*, (1997) 43-46.

[17] Pavela R., Sajrtová M., Sovová H., et Bárnet M., The insecticidal activity of *Satureja hortensis* L. extracts obtained by supercritical fluid extraction and traditional extraction techniques, *Appl. Entomol. Zool.*, 43 (2008) 377-382. doi: 10.1303/aez.2008.377.

[18] Dobbs J. M., Wong J. M., Lahiere R. J., et Johnston K. P., Modification of supercritical fluid phase behavior using polar cosolvents, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 26 (1987) 56-65. doi: 10.1021/ie00061a011.

[19] Salajegheh D., Vaziri A., et Bastani D., Supercritical Extraction of Cocoa Butter from Cocoa Seed, Using Pure Carbon Dioxide, Carbon Dioxide with Ethanol as Co-Solvent and Ethane, (2013) 1- 6.

[20] Veggi P. C., Cavalcanti R. N., et Meireles M. A. A., Modifier effects on Supercritical Fluid Extraction (SFE) of some Brazilian plants: Antioxidant activity and Economical evaluation, *Procedia Food Sci.*, 1 (2011) 1717-1724 .doi: 10.1016/j.profoo.2011.09.253.

[21] Baysal T., Ersus S., et Starmans D. A. J., Supercritical CO₂ Extraction of β -Carotene and Lycopene from Tomato Paste Waste, *J. Agric. Food Chem.*, 48 (2000) 5507-5511. doi: 10.1021/jf000311t.

[22] Kessler J. C., Obtaining Aromatic Extracts from Portuguese *Thymus mastichina* L. by Hydrodistillation and Supercritical Fluid Extraction with CO₂ as Potential Flavouring Additives for Food Applications, *Molecules*, 27 (2022) 694. doi: 10.3390/molecules27030694.

[23] Vladić J., Duarte A. R. C., Radman S., Simić S., et Jerković I., Enzymatic and Microwave Pretreatments and Supercritical CO₂ Extraction for Improving Extraction Efficiency and Quality of *Origanum vulgare* L. spp. *hirtum* Extracts, *Plants*, 11(2021) 54. doi: 10.3390/plants11010054.

[24] Rodríguez-España M., Mendoza-Sánchez L. G., Magallón-Servín P., Salgado-Cervantes M. A., Acosta-Osorio A. A., et García H. S., Supercritical fluid extraction of lipids rich in DHA from *Schizochytrium* sp., *J. Supercrit. Fluids*, 179 (2022) 105391. doi: 10.1016/j.supflu.2021.105391.

[25] Baranauskienė R. et Venskutonis P. R., Supercritical CO₂ Extraction of *Narcissus poeticus* L. Flowers for the Isolation of Volatile Fragrance Compounds », *Molecules*, vol. 27 (2022) 353 . doi: 10.3390/molecules27020353.

[26] Peixoto V. O. D., Silva L. O., Castelo-Branco V. N., et Torres A. G., Baru (*Dipteryx alata* Vogel) Oil Extraction by Supercritical-CO₂: Improved Composition by Using Water as Cosolvent, *J. Oleo Sci.*, 71 (2022) 201-213. doi: 10.5650/jos.ess21115.

- [27] Aytaç E., Comparison of extraction methods of virgin coconut oil: cold press, soxhlet and supercritical fluid extraction, *Sep. Sci. Technol.*, 57 (2022) 426-432. Doi: 10.1080/01496395.2021.1902353.
- [28] Gwiazdowska D. *et al.*, Antioxidant, Antimicrobial and Antibiofilm Properties of Glechoma hederacea Extracts Obtained by Supercritical Fluid Extraction, Using Different Extraction Conditions, *Appl. Sci.*, 12 (2022) 3572. Doi: 10.3390/app12073572.
- [29] Mouahid A. *et al.*, Supercritical CO₂ extraction of Moroccan argan (*Argania spinosa* L.) oil: Extraction kinetics and solubility determination, *J. CO₂ Util.*, 46 (2021) 101458. Doi: 10.1016/j.jcou.2021.101458.
- [30] Kchaou M. *et al.*, Chemical Composition and Biological Activities of *Zygophyllum album* (L.) Essential Oil from Tunisia, 18 (2016) 1499-1510.
- [31] Aslam N., Wani A., Distribution and Medicinal importance of *Peganum harmala*- A review, *Int. J. Adv. Res.*, 2 (2014) 751-755.
- [32] GUERGOURH., Etude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Peganum harmala*, *Univ. Ferhat Abbas Sétif 1 Fac. Sci. Nat. Vie*, (2018) p. 155.
- [33] Shahrajabian M. H., Sun W., Cheng Q., « Improving health benefits with considering traditional and modern health benefits of *Peganum harmala* », *Clin. Phytoscience*, 7 (2021) 18, doi: 10.1186/s40816-021-00255-7.
- [34] Isabela A. A., Chemical study of *Peganum harmala* seeds, *Afr. J. Biotechnol.*, 18 (2019) 462-471. Doi: 10.5897/AJB2019.16762.
- [35] Kumar M., Joshi S., Kulkarni V., et Savant C., Phytochemical screening and evaluation of analgesic, anti-inflammatory activities of *Peganum harmala* Linn., seeds in rodents, *J. Appl. Pharm. Sci.*, (2015) p. 052-055. Doi: 10.7324/JAPS.2015.50510.
- [36] Asgarpanah J., Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L., *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, 6 (2012). Doi: 10.5897/AJPP11.876.
- [37] Khlifi D., Sghaier R. M., Amouri S., Laouini D., Hamdi M., et Bouajila J., Composition and anti-oxidant, anti-cancer and anti-inflammatory activities of *Artemisia herba-alba*, *Ruta chalpensis* L. and *Peganum harmala* L., *Food Chem. Toxicol.*, 55 (2013) 202-208. Doi: 10.1016/j.fct.2013.01.004.
- [38] Apostolico I., Chemical Composition, Antibacterial and Phytotoxic Activities of *Peganum harmala* Seed Essential Oils from Five Different Localities in Northern Africa, *Molecules*, 21 (2016) p. 1235. Doi: 10.3390/molecules21091235.
- [39] Hassani L. M. I. et El Hadek M., Analyse de la composition de l'huile de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*), *Acta Bot. Gallica*, 146 (1999) 353-359. Doi: 10.1080/12538078.1999.10515822.

- [40] Kaskoos R. A., Physico-chemical Parameters, Phytochemical Screening and Antioxidant Activity of Seeds of *Peganum harmala* Collected from Iraq, *Asian J. Biomed. Pharm. Sci.*, (2014) p. 5.
- [41] Dube A., Misra P., Khaliq T., Tiwari S., Kumar N., et Narender T., Therapeutic Potential of *Harmala* (*Peganum harmala* L.) Seeds with an Array of Pharmacological Activities, in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, Elsevier, (2011) 601-609. doi: 10.1016/B978-0-12-375688-6.10071-4.
- [42] Marwat S. K. et ur Rehman F., Medicinal and Pharmacological Potential of *Harmala* (*Peganum harmala* L.) Seeds, in *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, Elsevier, (2011) 585-599. Doi: 10.1016/B978-0-12-375688-6.10070-2.
- [43] Tahrouch S., Rapior S., Mondolot-Cosson L., Idrissi-Hassani L. A., et Bessière J. M., PEGANUM HARMALA: SOURCE COMBINÉE D'AROMES ET, *Rev. Biol. Biotechnol.*, 2 (2002) 33-37.
- [44] Gonçalves S. et Romano A., « The medicinal potential of plants from the genus *Plantago* (Plantaginaceae) », *Ind. Crops Prod.*, 83 (2016) 213-226. Doi: 10.1016/j.indcrop.2015.12.038.
- [45] Patel M. K., Mishra A., Jaiswar S., et Jha B., Metabolic profiling and scavenging activities of developing circumscissile fruit of psyllium (*Plantago ovata* Forssk.) reveal variation in primary and secondary metabolites, *BMC Plant Biol.*, 20 (2020) p. 116. Doi: 10.1186/s12870-020-2318-5.
- [46] Talukder P., Talapatra S., Ghoshal N., et Sen Raychaudhuri S., Antioxidant activity and HPLC analysis of phenolic compounds during in vitro callus culture of *Plantago ovata* Forsk and effect of exogenous additives on accumulation of phenolic compounds, *J. Sci. Food Agric.*, 96 (2016) 232-244. Doi: 10.1002/jsfa.7086.
- [47] Masood R. et Miraftab M., « Psyllium: Current and Future Applications », in *Medical and Healthcare Textiles*, Elsevier, (2010,) 244-253. Doi: 10.1533/9780857090348.244.
- [48] Jana L. Phan, James M. Cowley, et Kylie A. Neumann., The novel features of *Plantago ovata* seed mucilage accumulation, storage and release, *Scientific Reports*, (2020) 1-14.
- [49] Khetib, Y., Meniai, A.-H., Gari, A., Sedraoui, K., Refrigerants design for an absorption refrigeration machine using group contribution methods, *Chemical Engineering Communications*, 2023, 210(4), pp. 471–489
- [50] Menial, A.-H., Newsham, D.M.T., Molecular solvent design for liquid-liquid extraction using the UNIQUAC model, *Fluid Phase Equilibria*, 1999, 158-160, pp. 327–335
- [51] Meniai, A.-H., Solvent design for liquid extraction using calculated molecular interaction parameters, *Chemical Engineering Research and Design*, 1998, 76(8 A8), pp. 942–950
- [52] Brunner G., « Calculation of phase equilibria and their relation to separation with supercritical fluids », *J. Supercrit. Fluids*, 134 (2018) 2-11. doi: 10.1016/j.supflu.2017.12.031.
- [53] Haloui I., Extraction de composés pharmaceutiques par fluides supercritiques, Doctorat, Salah Boubnider Constantine3, Constantine, 2017.

- [54] Prausnitz J.M., Molecular thermodynamics of fluid phase equilibria P.T.R, New Jersey 07632, 1986
- [55] Chafer A., Fornari T., Berna A., et Stateva R. P., Solubility of quercetin in supercritical CO₂ + ethanol as a modifier: measurements and thermodynamic modelling, *J. Supercrit. Fluids*, 32 (2004) 89-96. doi: 10.1016/j.supflu.2004.02.005.
- [56] Sodeifian G., Saadati Ardestani N., Sajadian S. A., et Panah H. S., Measurement, correlation and thermodynamic modeling of the solubility of Ketotifen fumarate (KTF) in supercritical carbon dioxide: Evaluation of PCP-SAFT equation of state, *Fluid Phase Equilibria*, 458 (2018) 102-114. doi: 10.1016/j.fluid.2017.11.016.
- [57] Baseri H., Haghghi-Asl A., et Lotfollahi N., Thermodynamic modeling of solid solubility in supercritical carbon dioxide: Comparison between mixing rules, *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.*, 19 (2013) 389-398. doi: 10.2298/CICEQ120203074B.
- [58] Reid R. C., Prausnitz J. M., et Poling B. E., *The Properties Of Gas & Liquid*, 4th.ed. New York: united state of America : McGraw-Hill, 1987.
- [59] Vidal J., Thermodynamique: Application au génie chimique et à l'industrie Pétrolière, Edition Technip, Paris, 1997.
- [60] Peng, D-Y .Robinson, a new two constants equation of state, *Ind. Ing. Chem. Fundam.* (1976), 15, 59-64.
- [61] Vidal J., Equation of state, reworking old forms, *Fluid Phase Equilibria*, 13 (1983), 15-33.
- [62] Redlich O., Kwong J.N.S., On the Thermodynamics of Solutions. V. An Equation of State. Fugacities of Gaseous Solutions, *Che. Rev.*, 44 (1949), 233-244
- [63] Soave G., Equilibrium constants from a modified Redlich-Kwong equation of state, *Chem. Eng. Sci.* 27 (1972), 1197-1203.
- [64] Robinson D. B., Peng D.Y., The characterization of the heptanes and heavier fractions for the GPA Peng–Robinson programs, Gas processors association, Research Report RR-28, 1978 (booklet only sold by the GPA, Gas Processors Association).
- [65] Bezaze, H., Meniai, A.-H., Zehioua, R., Application of thermodynamic models for high pressure processes, 2014, *International Journal of Hydrogen Energy* 40 (2) , pp. 1298, Elsevier.
- [66] Nelder J. A. et Mead R., « A Simplex Method for Function Minimization », *Comput. J.*, vol. 7 (4) (1965), 308-313
- [67] Jaubert J.-N. et Mutelet F., VLE predictions with the Peng–Robinson equation of state and temperature dependent kij calculated through a group contribution method, *Fluid Phase Equilibria*, 224 (2004) 285-304. doi: 10.1016/j.fluid.2004.06.059.
- [68] Vitu S., Privat R., Jaubert J.-N., et Mutelet F., Predicting the phase equilibria of CO₂+hydrocarbon systems with the PPR78 model (PR EOS and kij calculated through a group contribution method), *J. Supercrit. Fluids*, 45 (2008) 1-26. doi: 10.1016/j.supflu.2007.11.015.

- [69] Benson S. W., J. H. Buss, Additivity Rules for the Estimation of Molecular Properties. Thermodynamic Properties, *J. Chem. Phys.* 29(1958), 546–572.
- [70] Klineciewicz K. M. et Reid R. C., Estimation of critical properties with group contribution methods, *AIChE J.*, 30 (1984) 137-142. doi: 10.1002/aic.690300119.
- [71] Joback K. G. et Reid R. C., Estimation of Pure-Component Properties from Group-Contributions, *Chem. Eng. Commun.*, 57 (1987) 233-243. doi: 10.1080/00986448708960487.
- [72] Owczarek I. et Blazej K., Recommended Critical Temperatures. Part I. Aliphatic Hydrocarbons, *J. Phys. Chem. Ref. Data*, 32 (2003) 1411-1427. doi: 10.1063/1.1556431.
- [73] L. Constantinou et R. Gani, New group contribution method for estimating properties of pure compounds, *AIChE J.*, 40 (1994) 1697-1710. doi: 10.1002/aic.690401011.
- [74] S. P. Verevkin, S. A. Kozlova, V. N. Emel'yanenko, E. D. Nikitin, A. P. Popov, et E. L. Krasnykh, Vapor Pressures, Enthalpies of Vaporization, and Critical Parameters of a Series of Linear Aliphatic Dimethyl Esters of Dicarboxylic Acids, *J. Chem. Eng. Data*, 51 (2006) 1896-1905. doi: 10.1021/je0602418.
- [75] Hussein R. A. et El-Anssary A. A., Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants, in *Herbal Medicine*, P. F. Builders, Éd., IntechOpen, 2019. Doi: 10.5772/intechopen.76139.
- [76] Thirumurugan D., Cholarajan A., Raja S. S. S., et Vijayakumar R., An Introductory Chapter: Secondary Metabolites, in *Secondary Metabolites - Sources and Applications*, R. Vijayakumar et S. S. S. Raja, Éd., InTech, 2018. Doi: 10.5772/intechopen.79766.
- [77] Msomi N. Z. et Simelane M. B.C., « Herbal Medicine », in *Herbal Medicine*, P. F. Builders, Éd., IntechOpen, 2019. Doi: 10.5772/intechopen.72816.
- [78] Jamwal K., Bhattacharya S., et Puri S., « Plant growth regulator mediated consequences of secondary metabolites in medicinal plants », *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants*, 9 (2018) 26-38. Doi: 10.1016/j.jarmap.2017.12.003.
- [79] El Gharras H., Polyphenols: food sources, properties and applications - a review: Nutraceutical polyphenols, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 44 (2009) 2512-2518. Doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02077.x.
- [80] Collin S., Crouzet J., *POLYPHENOLS ET PROCÉDES transformation des polyphenols au travers des procedes appliques a l'agro-alimentaire (collection auf)*. [S.l.]: LAVOISIER, 2011.
- [81] Twaij B. M. et Hasan M. N., Bioactive Secondary Metabolites from Plant Sources: Types, Synthesis, and Their Therapeutic Uses, *Int. J. Plant Biol.*, 13 (2022) 4-14. doi: 10.3390/ijpb13010003.
- [82] Narbona E., del Valle J. C., Arista M., Buide M. L., et Ortiz P. L., Major Flower Pigments Originate Different Colour Signals to Pollinators, *Front. Ecol. Evol.*, vol. 9, p. 743850, oct. 2021. Doi: 10.3389/fevo.2021.743850.

- [83] Imperato F., *Phytochemistry: advances in research*. Trivandrum, Kerala: Research Signpost, 2006.
- [84] Panche A. N., Diwan A. D., et Chandra S. R., « Flavonoids: an overview », *J. Nutr. Sci.* 5 (2016).
- [85] Wink M., Modes of Action of Herbal Medicines and Plant Secondary Metabolites, *Medicines*, 2 (2015) 251-286. Doi: 10.3390/medicines2030251.
- [86] Boz H., p-Coumaric acid in cereals: presence, antioxidant and antimicrobial effects, *Int. J. Food Sci. Technol.*, 50 (2015) 2323-2328.
- [87] Annunziata F., Pinna C., Dallavalle S., Tamborini L., et Pinto A., An overview of coumarin as a versatile and readily accessible scaffold with broad-ranging biological activities, *Int. J. Mol. Sci.*, 21 (2020) p. 4618.
- [88] Hassanein E. H., Sayed A. M., Hussein O. E., et Mahmoud A. M., « Coumarins as modulators of the Keap1/Nrf2/ARE signaling pathway », *Oxid. Med. Cell. Longev.*, (2020).
- [89] Kostova I., Coumarins as Antioxidants, *Curr. Med. Chem.*, 18 (2011) 3929-3951. Doi: 10.2174/092986711803414395.
- [90] Liu Q., Luo L., et Zheng L., Lignins: biosynthesis and biological functions in plants, *Int. J. Mol. Sci.*, 19 (2018) p. 335.
- [91] Canter P. H. et Ernst E., « Anthocyanosides of *Vaccinium myrtillus* (Bilberry) for Night Vision—A Systematic Review of Placebo-Controlled Trials », *Surv. Ophthalmol.*, 49 (2004) 38-50. Doi: 10.1016/j.survophthal.2003.10.006.
- [92] Castañeda-Ovando A., Pacheco-Hernández M., Páez-Hernández M., et Rodríguez J. A., Galán-Vidal C. A., Chemical studies of anthocyanins: A review, *Elsevier Ltd*, 113 (2009) 859-871. Doi: doi:10.1016/j.foodchem.2008.09.001.
- [93] Lu J.J., Quinones derived from plant secondary metabolites as anti-cancer agents, *Anti-Cancer Agents Med. Chem. Former. Curr. Med. Chem.-Anti-Cancer Agents*, 13 (2013) 456-463.
- [94] El-Najjar N., Gali-Muhtasib H., Ketola R. A., Vuorela P., Urtti A., et Vuorela H., « The chemical and biological activities of quinones: overview and implications in analytical detection », *Phytochem. Rev.*, 10 (2011) 353-370.
- [95] Lakshmanashetty R. H. et Hiremath M. G., « In vitro Antioxidant Activity of *Vitex negundo* L. Leaf Extracts », *Chiang Mai J Sci*, p. 9.
- [96] . Prashith K., « Antibacterial, Cytotoxic and Antioxidant Potential of *Vitex Negundo* Var. *Negundo* and *Vitex Negundo*-Var. *Purpurascens* – A Comparative Study », *Sci. Technol. Arts Res. J.*, 2 (2013) p. 59. doi: 10.4314/star.v2i3.98737.
- [97] Roosewelt C., Vincent S., Sujith K., et Darwin C. R., « Wound healing activity of methanolic extract of *Vitex negundo* leaves in albino Wistar rats », *J. Pharm. Res.*, (2011) p. 3.
- [98] Fazeli-Nasab B. et Mousavi S. R., Antibacterial Activities of *Ephedra sinica* Herb Extract on Standard and Clinical Strains of *Pseudomonas aeruginosa*, 8 (2019) p. 10.

- [99] Abourashed E. A., El-Alfy A. T., Khan I. A., et Walker L., « Ephedra in Perspective – a Current Review », *Phytother Res*, (2003) p. 10.
- [100] Rahman M. J., Camargo A. C., et Shahidi F., Phenolic and polyphenolic profiles of chia seeds and their in vitro biological activities, *J. Funct. Foods*, 35 (2017) 622-634. Doi: 10.1016/j.jff.2017.06.044.
- [101] Labanca F., « Papaver somniferum L. taxonomy, uses and new insight in poppy alkaloid pathways », *Phytochem Rev*, (2018) p. 19.
- [102] Grauso L., « Stinging nettle, *Urtica dioica* L.: botanical, phytochemical and pharmacological overview », *Phytochem Rev*, (2020) p. 37.
- [103] Joshi B. C., Mukhija M., et Kalia A. N., Pharmacognostical review of *Urtica dioica* L., *Int. J. Green Pharm.*, (2014) p. 9.
- [104] Hauser A. R., Meccas J., et Moir D. T., « Beyond Antibiotics: New Therapeutic Approaches for Bacterial Infections », *Clin. Infect. Dis.*, 63 (2016) 89-95. Doi: 10.1093/cid/ciw200.
- [105] Voon H. C., Bhat R., et Rusul G., « Flower Extracts and Their Essential Oils as Potential Antimicrobial Agents for Food Uses and Pharmaceutical Applications », *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 11 (2012) 34-55. Doi: 10.1111/j.1541-4337.2011.00169.x.
- [106] Wu M. et Brown A. C., « Applications of Catechins in the Treatment of Bacterial Infections », *Pathogens*, 10 (2021) p. 546. Doi: 10.3390/pathogens10050546.
- [107] Doron S. et Gorbach S. L., Bacterial Infections: Overview.
- [108] Belkhiri F, Activité Antimicrobienne et Antioxydante de deux Plantes Médicinales: *Salvia verbenaca* et *Lepidium sativum*, *Univ. Ferhat Abbas Sétif 1*, 2018.
- [109] Tsai P.W., Chen Y.T., Hsu P.C., et Lan C.Y., Study of *Candida albicans* and its interactions with the host: A mini review, *BioMedicine*, 3 (2013) 51-64. Doi: 10.1016/j.biomed.2012.12.004.
- [110] Valko M., Rhodes C. J., Moncol J., Izakovic M., et Mazur M., « Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer », *Chem. Biol. Interact.*, 160 (2006) 1-40. Doi: 10.1016/j.cbi.2005.12.009.
- [111] Afonso V., Champy R., Mitrovic D., Collin P., et Lomri A., Reactive oxygen species and superoxide dismutases: Role in joint diseases, *Joint Bone Spine*, 74 (2007) 324-329. Doi: 10.1016/j.jbspin.2007.02.002.
- [112] Zou Y., Qian Z.J., Li Y., Kim M.M., Lee S.H., et Kim S.K., Antioxidant Effects of Phlorotannins Isolated from *Ishige okamurae* in Free Radical Mediated Oxidative Systems, *J. Agric. Food Chem.*, 56 (2008) 7001-7009. doi: 10.1021/jf801133h.
- [113] Valko M., Izakovic M., Mazur M., Rhodes C. J., et Telser J., Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence, *Mol. Cell. Biochem.*, 266 (2004) 37-56. doi: 10.1023/B:MCBI.0000049134.69131.89.

- [114] Parham S., « Antioxidant, Antimicrobial and Antiviral Properties of Herbal Materials », *Antioxidants*, 9 (2020) p. 1309. doi: 10.3390/antiox9121309.
- [115] Varthaman A., Khallou-Laschet J., Thauinat O., Caligiuri G., et Nicoletti A., « L'athérogenèse: Une maladie dysimmunitaire », *médecine/sciences*, 24 (2008) 169-176.
doi: 10.1051/medsci/2008242169.
- [116] Evans P. et Halliwell B., Free Radicals and Hearing: Cause, Consequence, and Criteria *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 884 (1999) 19-40. doi: 10.1111/j.1749-6632.1999.tb08633.x.
- [117] Devasagayam T., Tilak J., Bloor K., Sane K. S., et Ghaskadbi S. S., Free Radicals and Antioxidants in Human Health: Current Status and Future Prospects, 52 (2004) p. 11.
- [118] Pietta P.G., Flavonoids as Antioxidants, *J. Nat. Prod.*, 63 (2000) 1035-1042. doi: 10.1021/np9904509.
- [119] Sunitha D., A REVIEW ON ANTIOXIDANT METHODS, *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, (2016) p. 14. doi: 10.22159/ajpcr.2016.v9s2.13092.
- [120] Floegel A., Kim D.O., Chung S.J., Koo S. I., et Chun O. K., Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods, *J. Food Compos. Anal.*, 24 (2011) 1043-1048. doi: 10.1016/j.jfca.2011.01.008.
- [121] Achat S., Polyphénols de l'alimentation: extraction, pouvoir antioxydant et interactions avec des ions métalliques, Avignon, 2013.
- [122] Vuolo M. M., Lima V. S., et Maróstica Junior M. R., Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power, in *Bioactive Compounds*, Elsevier, (2019) 33-50. doi: 10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5.
- [123] Louaer M., Zermane A., Larkeche O., et Meniai A., Experimental study and optimization of the extraction of Algerian date stones oil using supercritical carbon dioxide, *J. Food Process Eng.*, 42(2019). doi: 10.1111/jfpe.13049.
- [124] Mahmoudi S. et Khali M., « Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.) », *.B.*, (2013) p. 6.
- [125] Bahorun T., Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations., *Arzneimittelforschung.*, 46 (1996) 1086-1089.
- [126] Broadhurst R. B. et Jones W. T., Analysis of condensed tannins using acidified vanillin, *J. Sci. Food Agric.*, 29 (1978) 788-794. doi: 10.1002/jsfa.2740290908.
- [127] Ebrahimzadeh M. A et Hosseinimehr S. J., « antioxidant and free radical scavenging activity of feijoa *sellowiana* fruits peel and leaves », *Pharmacologyonline*, Iran, (2008) 7-14.
- [128] Bidie A. P. et N'guessan B. B., Activités antioxydantes de dix plantes médicinales de la pharmacopée ivoirienne., *Sciences & Nature*, Côte d'Ivoire, 8 (2011) 1-11.

- [129] Kedare S. B. et Singh R. P., Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay, *J. Food Sci. Technol.*, 48 (2011) 412-422. doi: 10.1007/s13197-011-0251-1.
- [130] Belkhiri F., Baghiani A., Zerroug M. M., et Arrar L., investigation of antihemolytic, xanthine oxidase inhibition, antioxidant and antimicrobial properties of salvia verbenaca l. Aerial part extracts, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, 14 (2017) 273-281. doi: 10.21010/ajtcam.v14i2.29.
- [131] Dennis C. et Webster J., « Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma: III. Hyphal interaction », p. 9.
- [132] Song W., Zhou L., Yang C., Cao X., Zhang L., et Liu X., Tomato Fusarium wilt and its chemical control strategies in a hydroponic system, *Crop Prot.*, 23 (2004) 243-247. doi: 10.1016/j.cropro.2003.08.007.
- [133] Montgomery D. C., *Design and analysis of experiments*, Eighth edition. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, Inc, 2013.
- [134] Dong C.H., Xie X.Q., Wang X.-L., Zhan Y., et Yao Y.J., Application of Box-Behnken design in optimisation for polysaccharides extraction from cultured mycelium of Cordyceps sinensis, *Food Bioprod. Process.*, 87 (2009) 139-144. doi: 10.1016/j.fbp.2008.06.004.
- [135] Dahiru T., P-Value, a true test of statistical significance? a cautionary note , *Ann. Ib. Postgrad. Med.*, 6 (2011) 21-26. doi: 10.4314/aipm.v6i1.64038.
- [136] Leo G. Di et Sardanelli F., « Statistical significance: p value, 0.05 threshold, and applications to radiomics—reasons for a conservative approach », *Eur. Radiol. Exp.*, 4 (2020) p. 18. doi: 10.1186/s41747-020-0145-y.
- [137] Maran J. P., Manikandan S., Priya B., et Gurumoorthi P., Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves, *J. Food Sci. Technol.*, 52 (2015) 92-104. doi: 10.1007/s13197-013-0985-z.
- [138] Kumar A., Prasad B., et Mishra I. M., Optimization of process parameters for acrylonitrile removal by a low-cost adsorbent using Box–Behnken design, *J. Hazard. Mater.*, 150 (2008) 174-182. doi: 10.1016/j.jhazmat.2007.09.043.
- [139] Lang Q. et Wai C. M., Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review, (2001) p. 12.
- [140] Jokić S., Effects of supercritical CO₂ extraction parameters on soybean oil yield, *Food Bioprod. Process.*, 90 (2012) 693-699. doi: 10.1016/j.fbp.2012.03.003.
- [141] Genena A. K., Hense H., Smânia Junior A., et de Souza S. M., Rosemary (*Rosmarinus officinalis*): a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide, *Ciênc. E Tecnol. Aliment.*, 28 (2008) 463-469. doi: 10.1590/S0101-20612008000200030.

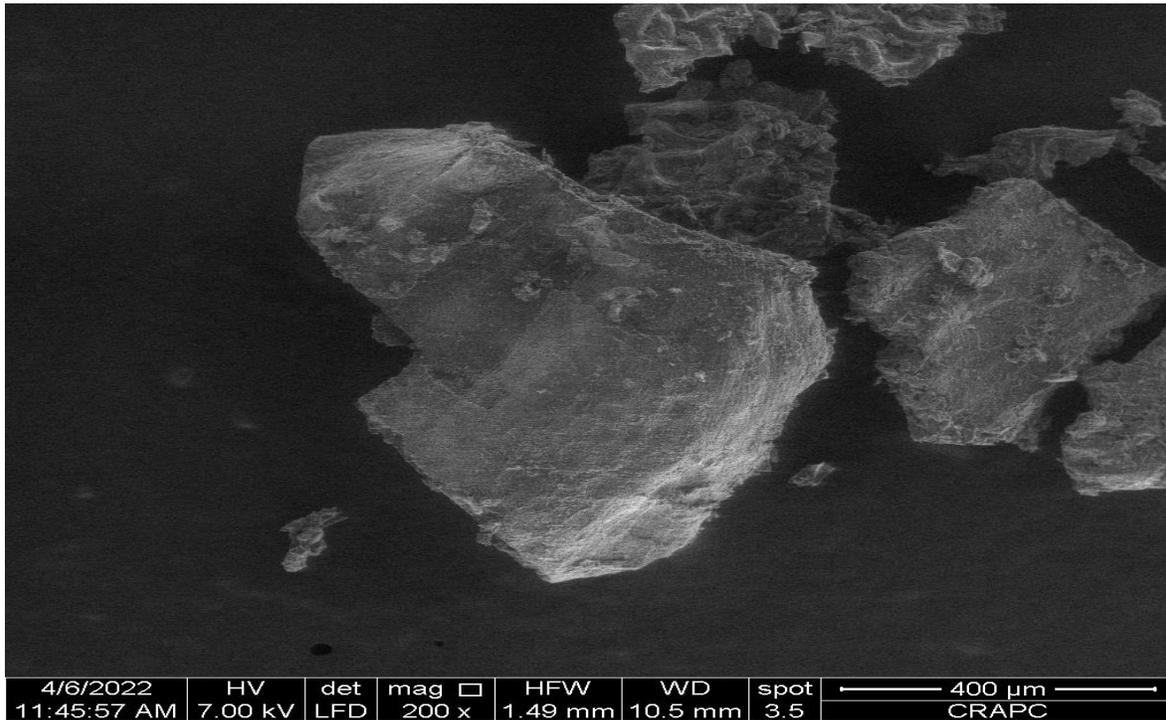
- [142] Khaw K.Y., Parat M.O., Shaw P. N., et Falconer J. R., Solvent Supercritical Fluid Technologies to Extract Bioactive Compounds from Natural Sources: A Review, *Molecules*, 22 (2017) p. 1186. doi: 10.3390/molecules22071186.
- [143] Sánchez-Camargo A. P., Mendiola J. A., Ibáñez E., et Herrero M., « Supercritical Fluid Extraction », in *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*, Elsevier, (2014) 1-14. doi: 10.1016/B978-0-12-409547-2.10753-X.
- [144] Snyder J. M., Friedrich J. P., et D. D. CHRISTIANSON, Effect of Moisture and Particle Size on the Extractability of Oils from Seeds with Supercritical CO₂, 61 (1984) p. 6.
- [145] Tri Ratnasari R., Gunawan S., Qudzi Fauzi M., et D. Fitriasia Septiarini, Patient Intimacy and Innovation Development to Improve Health Service Performance, *Int. J. Eng. Technol.*, 7 (2018) p. 338. doi: 10.14419/ijet.v7i2.29.13649.
- [146] Pambreni Y., Khatibi A., Azam S. M. F., et Tham J., The influence of total quality management toward organization performance, *Manag. Sci. Lett.*, (2019) 1397-1406. doi: 10.5267/j.msl.2019.5.011.
- [147] Ponce A. G., Fritz R., del Valle C., et Roura S. I., Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard, *LWT - Food Sci. Technol.*, 36 (2003) 679-684. doi: 10.1016/S0023-6438(03)00088-4.
- [148] Todd J. K., Staphylococcal Infections, *Pediatr. Rev.*, 26 (2005) 444-450. doi: 10.1542/pir.26.12.444.
- [149] Burt S., Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review, *Int. J. Food Microbiol.*, 94 (2004) 223-253. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- [150] Shaaban M. T., Ghaly M. F., et Fahmi S. M., Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria, *J. Basic Microbiol.*, 61 (2021) 557-568. doi: 10.1002/jobm.202100061.
- [151] Abubacker M. N. et Deepalakshmi T., In vitro Antifungal Potentials of Bioactive Compound Methyl Ester of Hexadecanoic Acid Isolated from *Annona muricata* Linn. (Annonaceae) Leaves, *Biosci. Biotechnol. Res. Asia*, 10 (2013) 879-884. doi: 10.13005/bbra/1211.
- [152] Wang N., Kuczmanski A., Dubrovskaja G., et Gollasch M., Palmitic Acid Methyl Ester and Its Relation to Control of Tone of Human Visceral Arteries and Rat Aortas by Perivascular Adipose Tissue, *Front. Physiol.*, 9 (2018) p. 583. doi: 10.3389/fphys.2018.00583.
- [153] Grace O. M.A., Kolawole I. A., et Cajethan, GC-MS analysis of bioactive compounds and evaluation of antimicrobial activity of the extracts of *Daedalea elegans*: A Nigerian mushroom, *Afr. J. Microbiol. Res.*, 14 (2020) 204-210. doi: 10.5897/AJMR2019.9120.
- [154] Marahatta A. B., Poudel B., et Basnyat R. C., The Phytochemical and Nutritional analysis and biological activity of *Tectaria coadunata* Linn, *Int. J. Herb. Med.*, 7 (2019) 42-50.

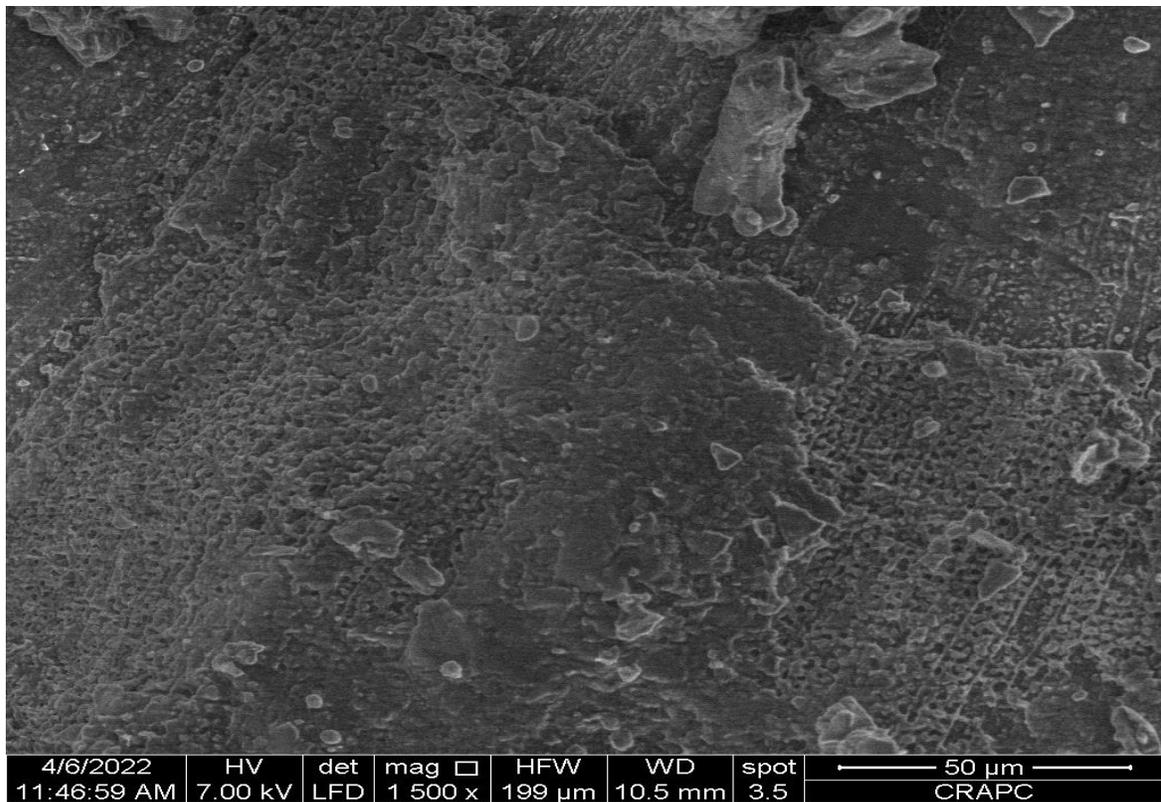
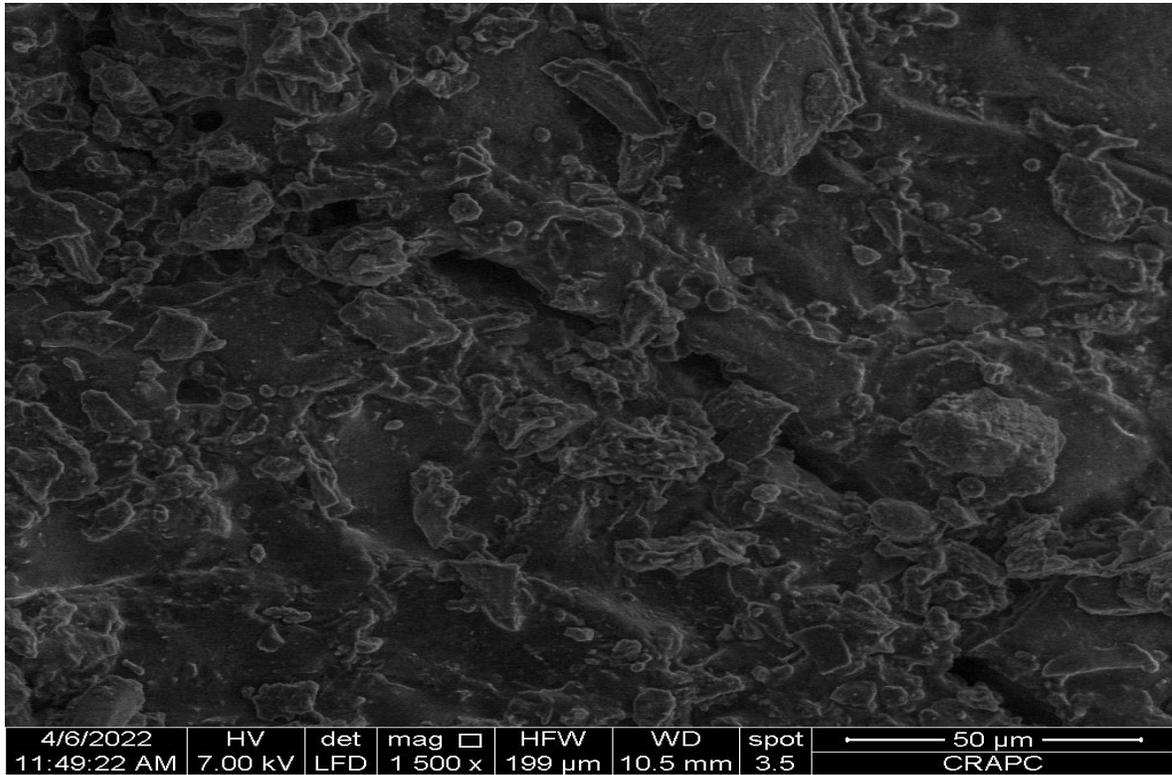
- [155] Lu Q., Liu T., Wang N., Dou Z., Wang K., et Zuo Y., Nematicidal Effect of Methyl Palmitate and Methyl Stearate against *Meloidogyne incognita* in Bananas , *J. Agric. Food Chem.*, 68 (2020) 6502-6510. doi: 10.1021/acs.jafc.0c00218.
- [156] Elshafie H. S., Racioppi R., Bufo S. A., et Camele I., In vitro study of biological activity of four strains of *Burkholderia gladioli* pv. *agaricicola* and identification of their bioactive metabolites using GC-MS, *Saudi J. Biol. Sci.*, 24 (2017) 295-301. doi: 10.1016/j.sjbs.2016.04.014.
- [157] Tahmasebi S., Salimizadeh Z., et Mahjoubi F., Efficiency of β -carboline Presented in the Seeds of *Peganum harmala* L. as Antiproliferative Agent Against Breast Cancer Cell Line, *Journal of Medicinal Plants and By-products*, Tehran, Iran, (2022) 1-9.
- [158] Shen J., Li J., Jiang S., et Jiang N., Harmaline from *Peganum harmala* alkaloid: ecofriendly and highly effective larvicidal potential against the larvae of deltamethrin-resistant strain of the vector mosquito *Aedes albopictus* (Skuse) (Diptera: Culicidae) , *research square*, 2022.
- [159] Hemmateenejad B., Abbaspour A., et Maghami H., Partial least squares-based multivariate spectral calibration method for simultaneous determination of beta carboline derivatives in *Peganum harmala* seed extracts., *Anal. Chim. Acta*, 575 (2006) 290-299.
- [160] Chen D., Harmine, a small molecule derived from natural sources, inhibits enterovirus 71 replication by targeting NF- κ B pathway, *Int. Immunopharmacol.*, 60 (2018) 111-120.
- [161] Annunziata F., Pinna C., Dallavalle S., Tamborini L., et Pinto A., An Overview of Coumarin as a Versatile and Readily Accessible Scaffold with Broad-Ranging Biological Activities, *International Journal of Molecular Sciences*, Italy, (2020) 1-81.
- [162] Zang Y., Pharmacological Activities of Coumarin Compounds in Licorice: A Review, *Nat. Prod. Commun.*, 5 (2020) 1-17. doi: 10.1177/1934578X20953954.
- [163] Zheng L., Gamma tocopherol, its dimmers, and quinones: Past and future trends, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 60 (2020) 3916-3930. doi: 10.1080/10408398.2020.1711704.
- [164] Pahrudin Arrozi A., Comparative Effects of Alpha- and Gamma-Tocopherol on Mitochondrial Functions in Alzheimer's Disease In Vitro Model, *Sci. Rep.*, 10 (2020) p. 8962. doi: 10.1038/s41598-020-65570-4.
- [165] Figueroa Gonzalez D. et Young F., Gamma Tocopherol Reduced Chemotherapeutic-Induced ROS in an Ovarian Granulosa Cell Line, But Not in Breast Cancer Cell Lines In Vitro, *Antioxidants*, 9 (2020). doi: 10.3390/antiox9010051.

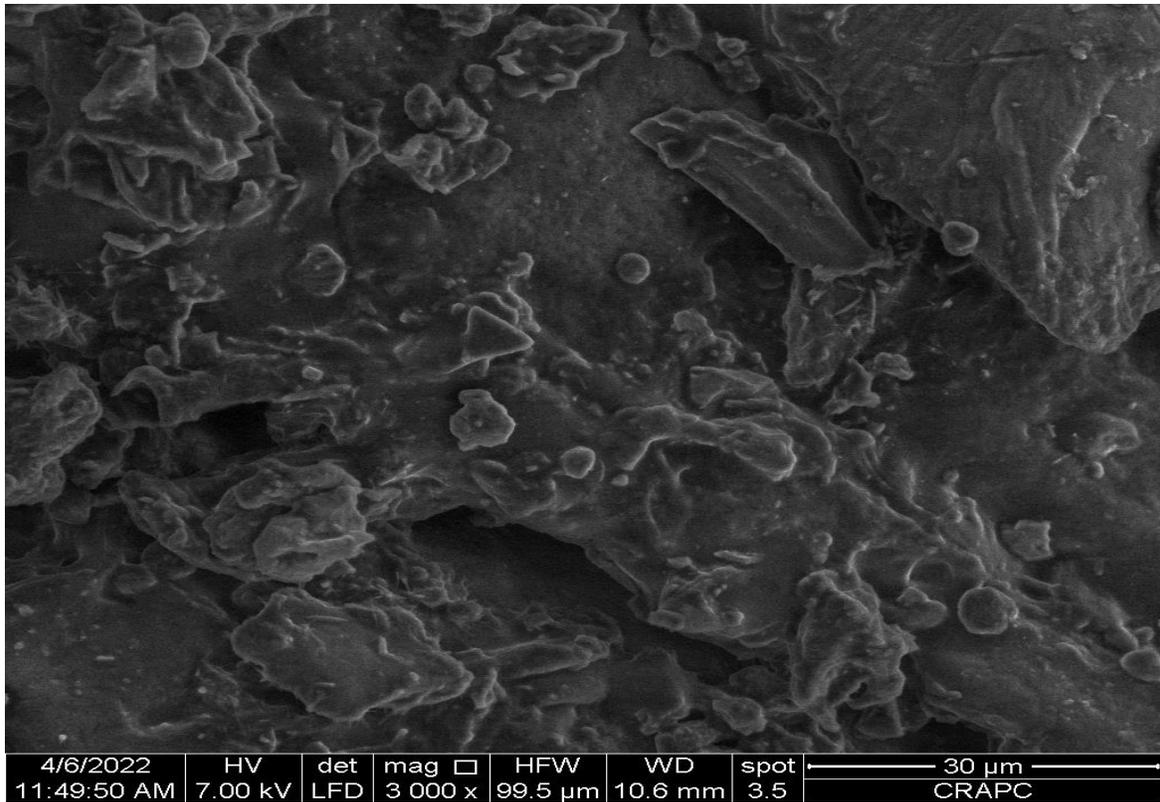
LISTE DES ANNEXES

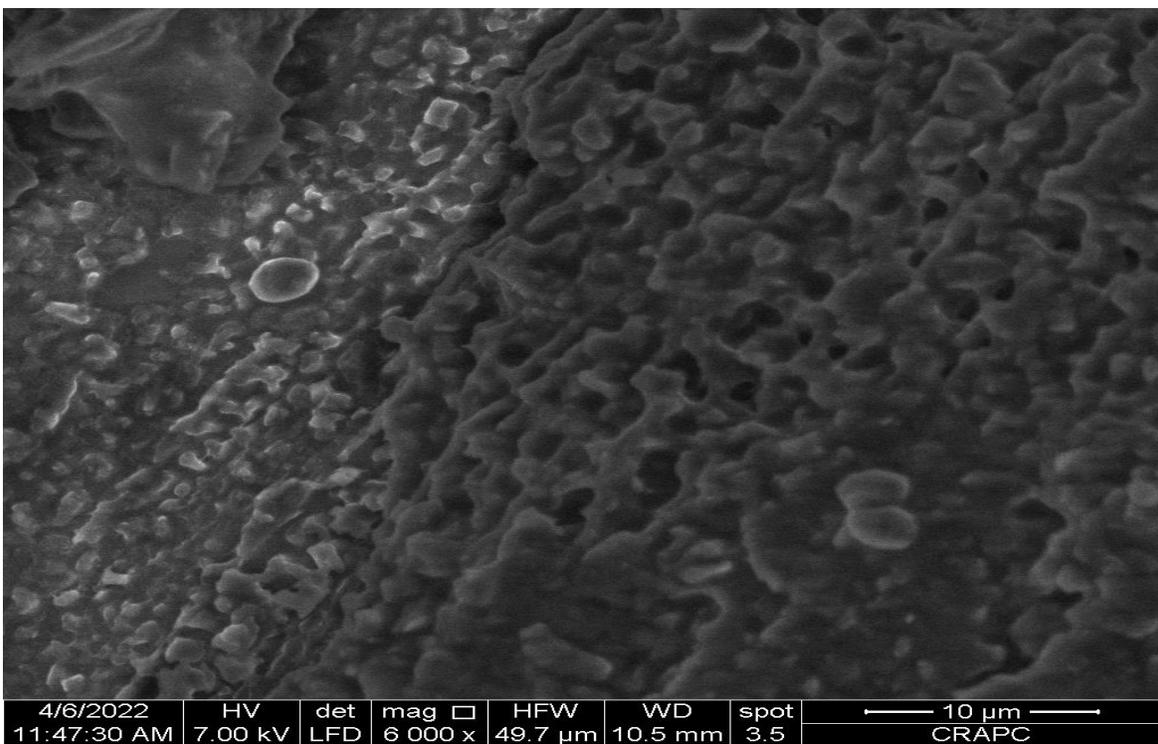
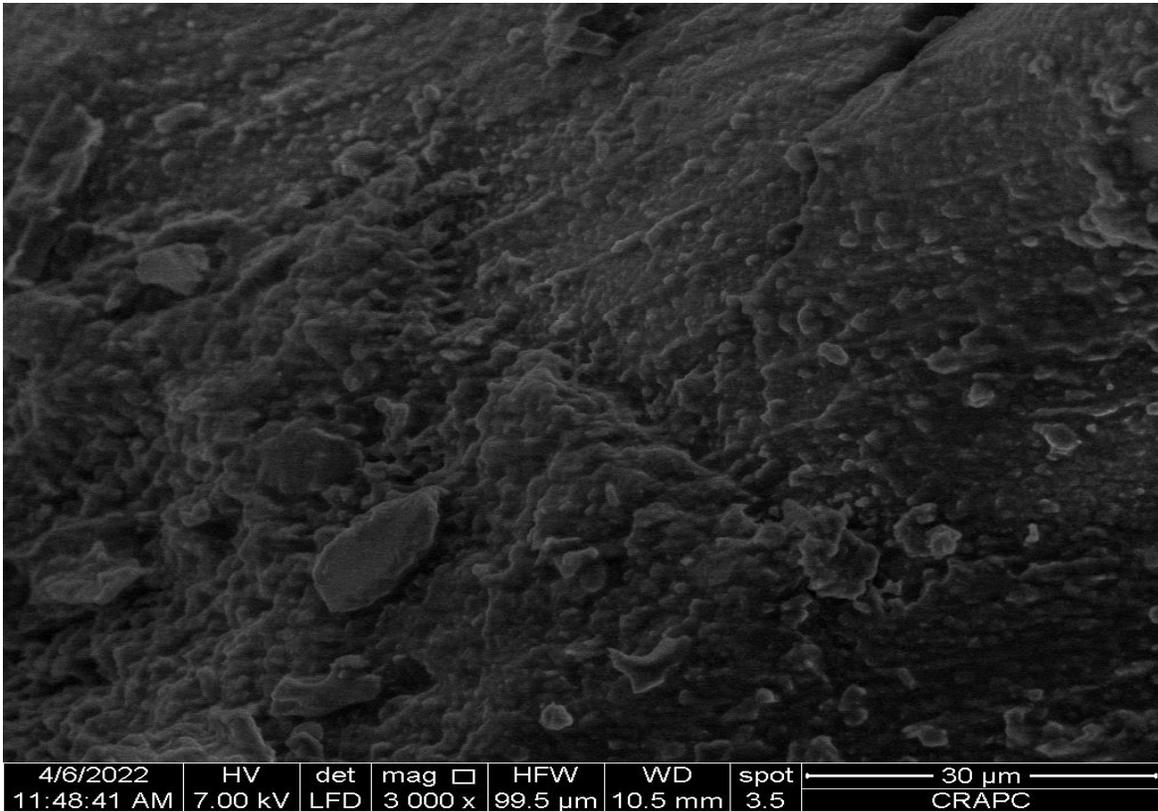
Annexe AAnalyse par microscope electronique a balayageCas de peganum harmala

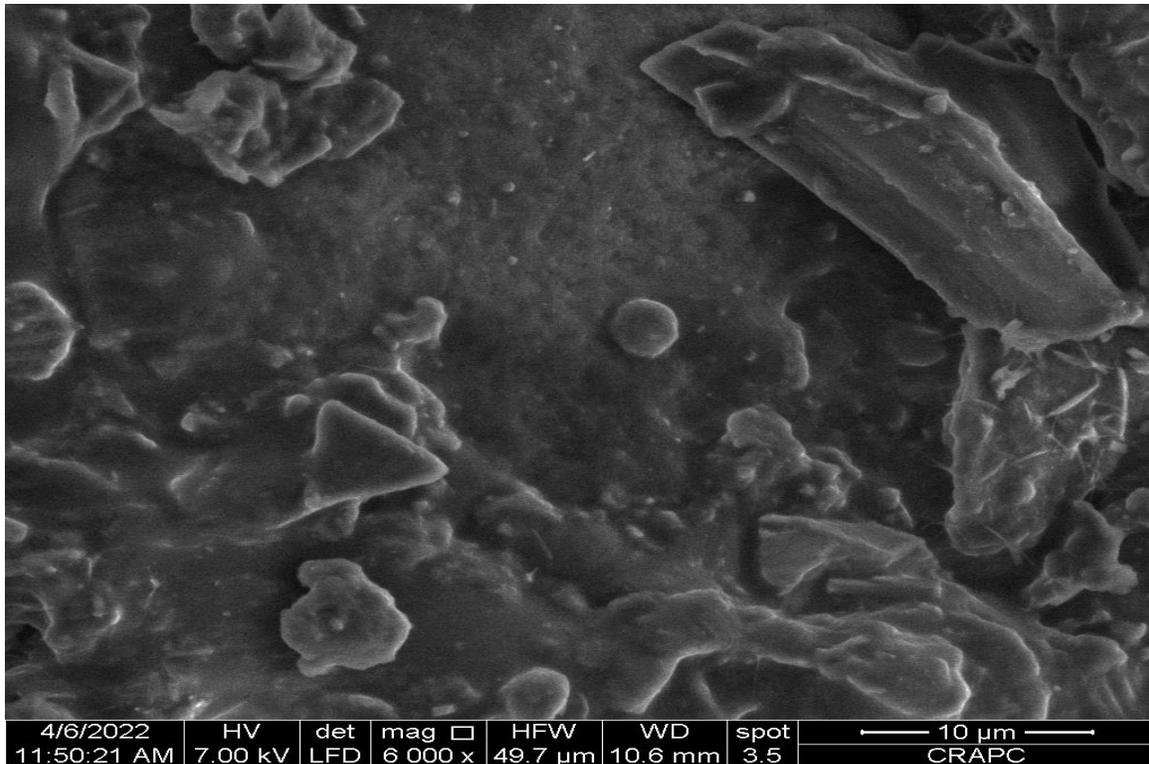
Peganum harmala d=0.25 mm (avant extraction)



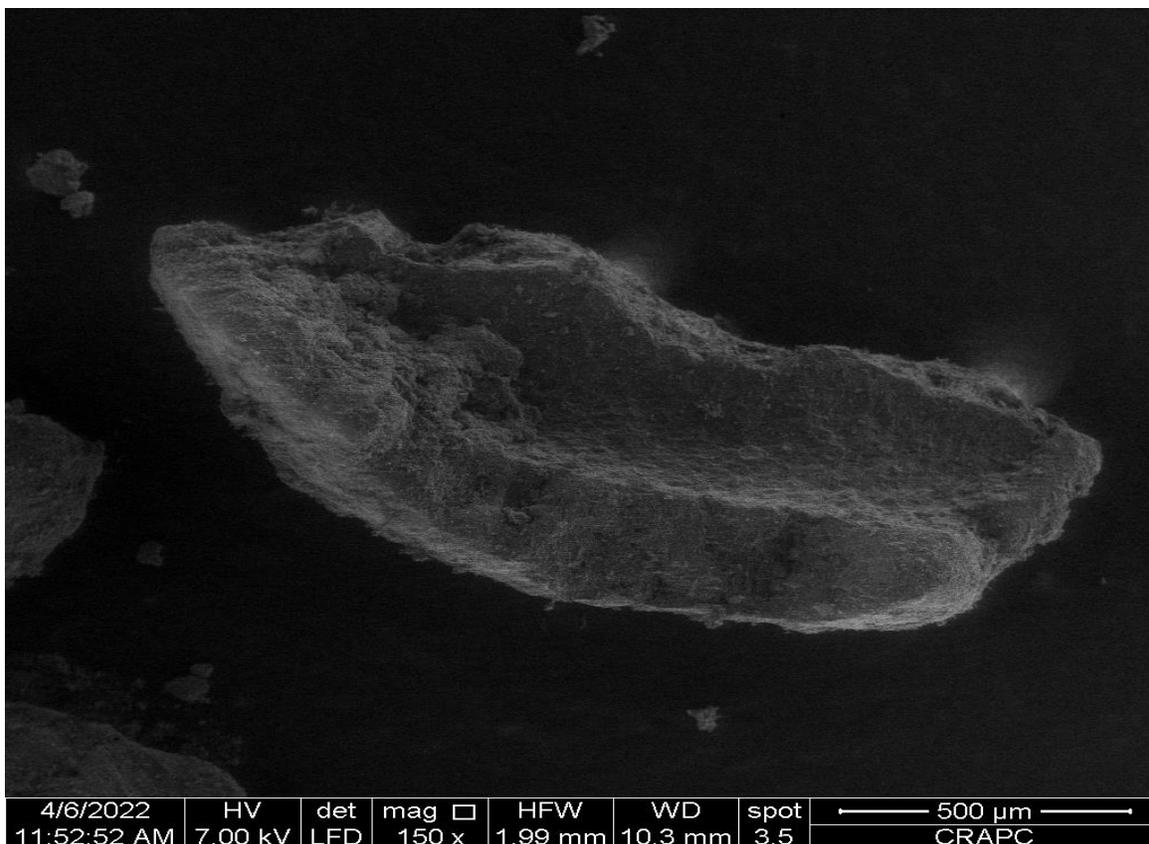


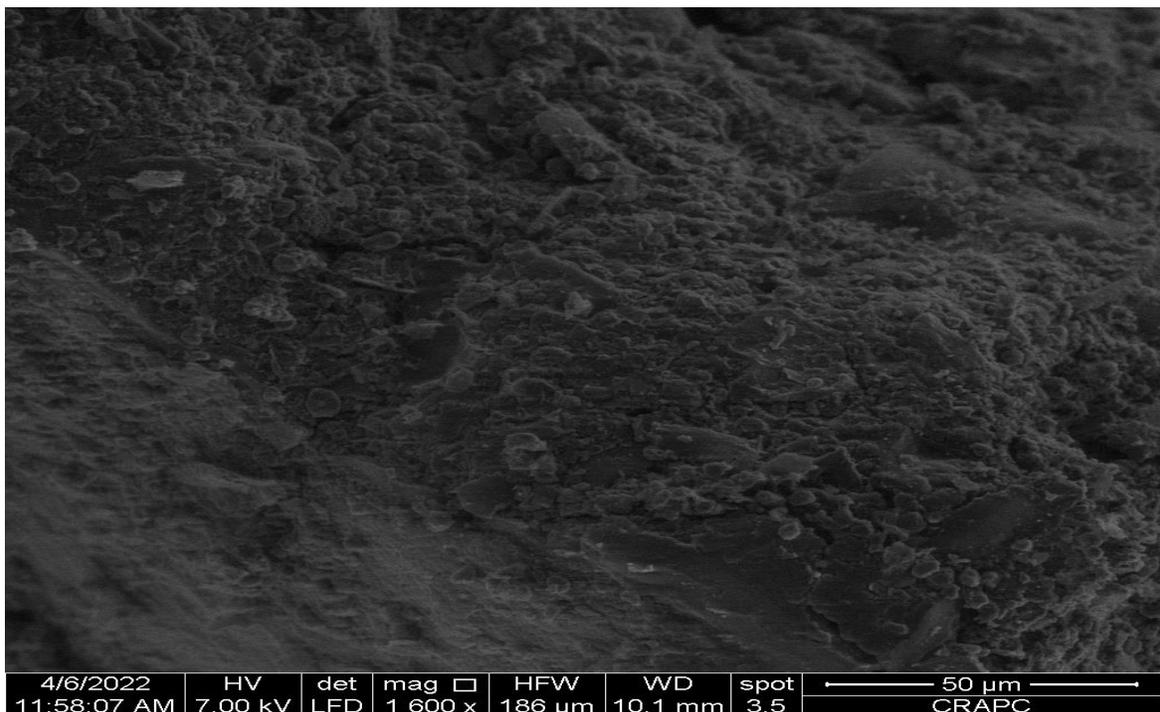
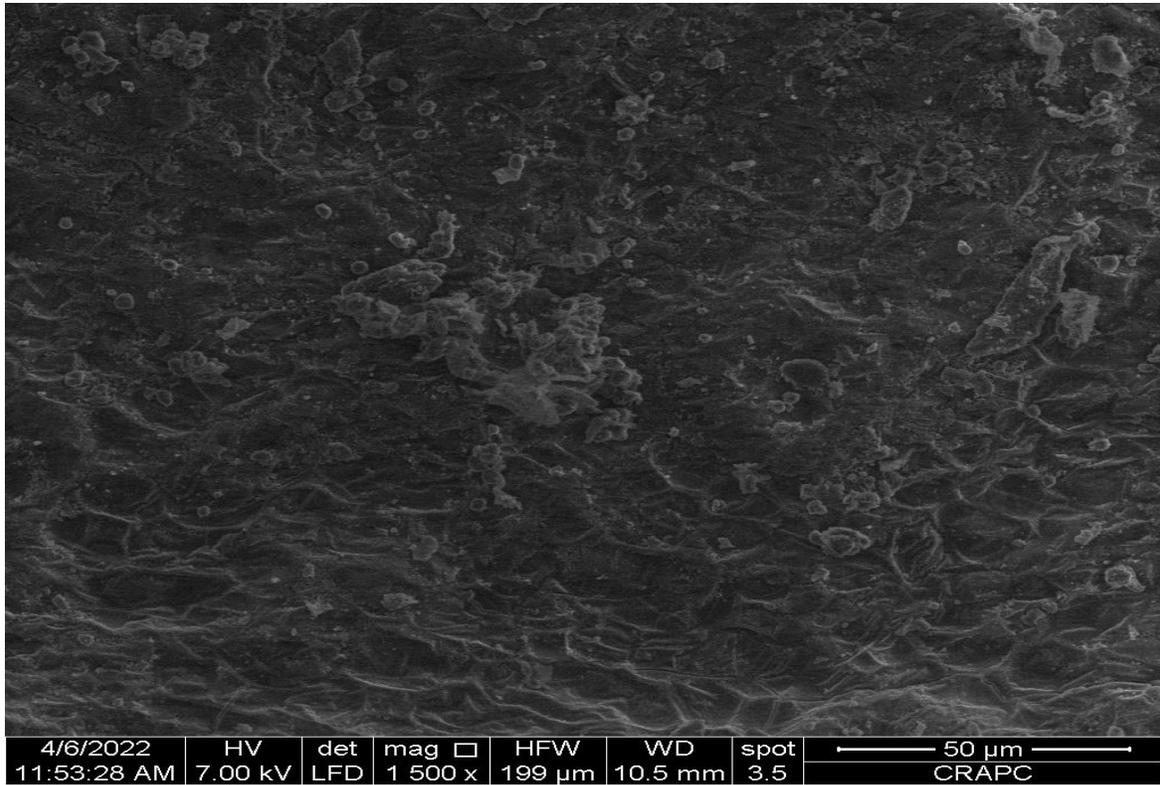


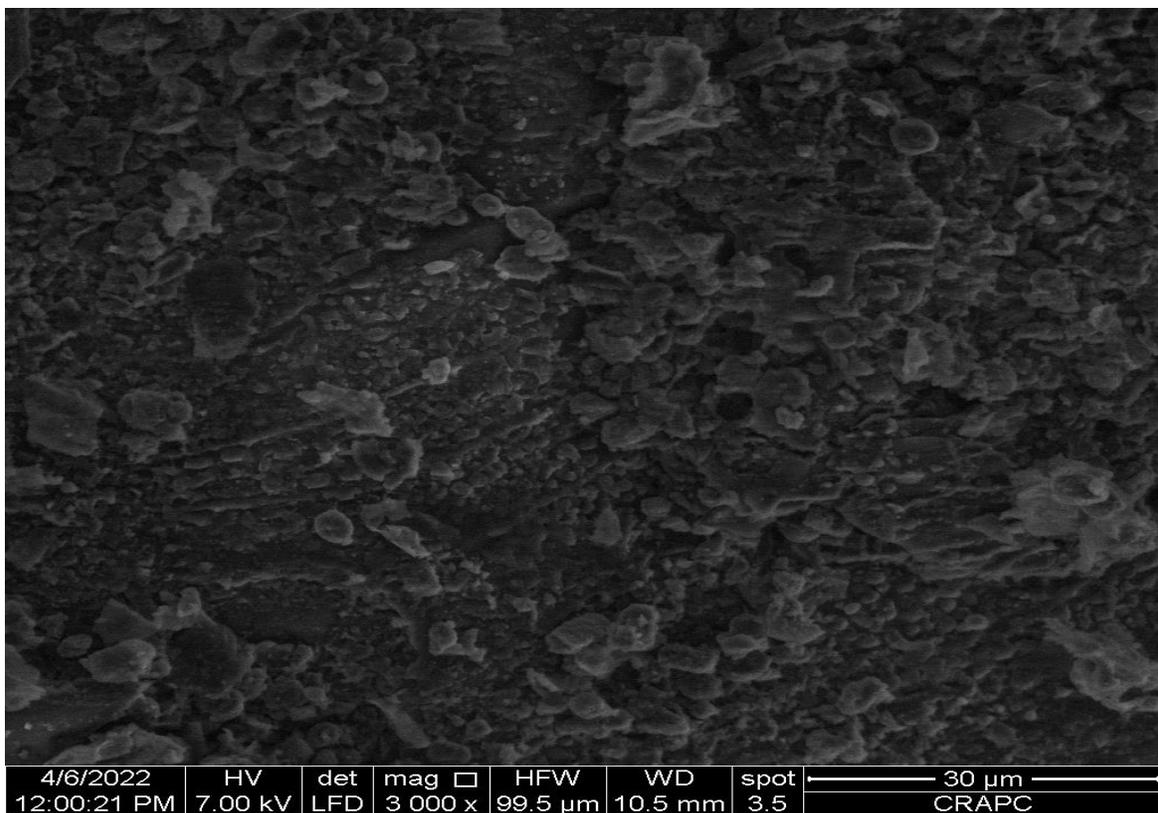
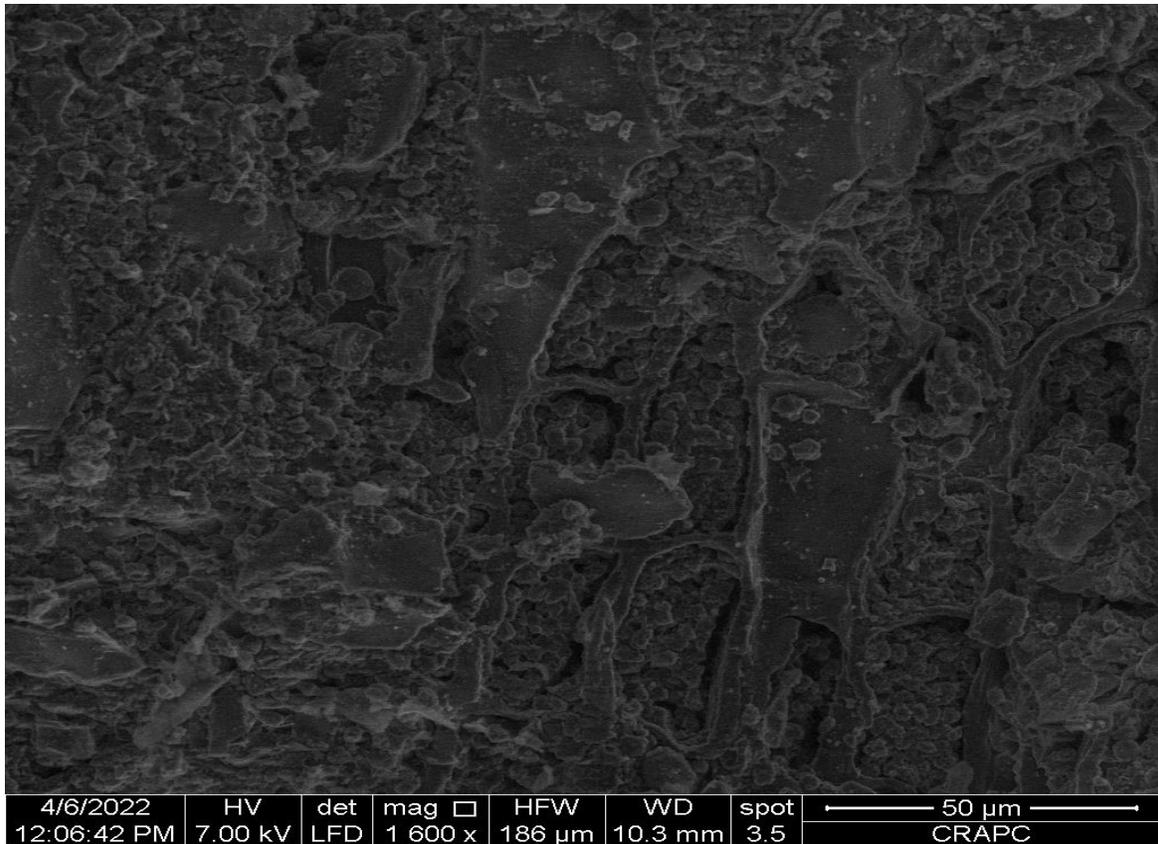


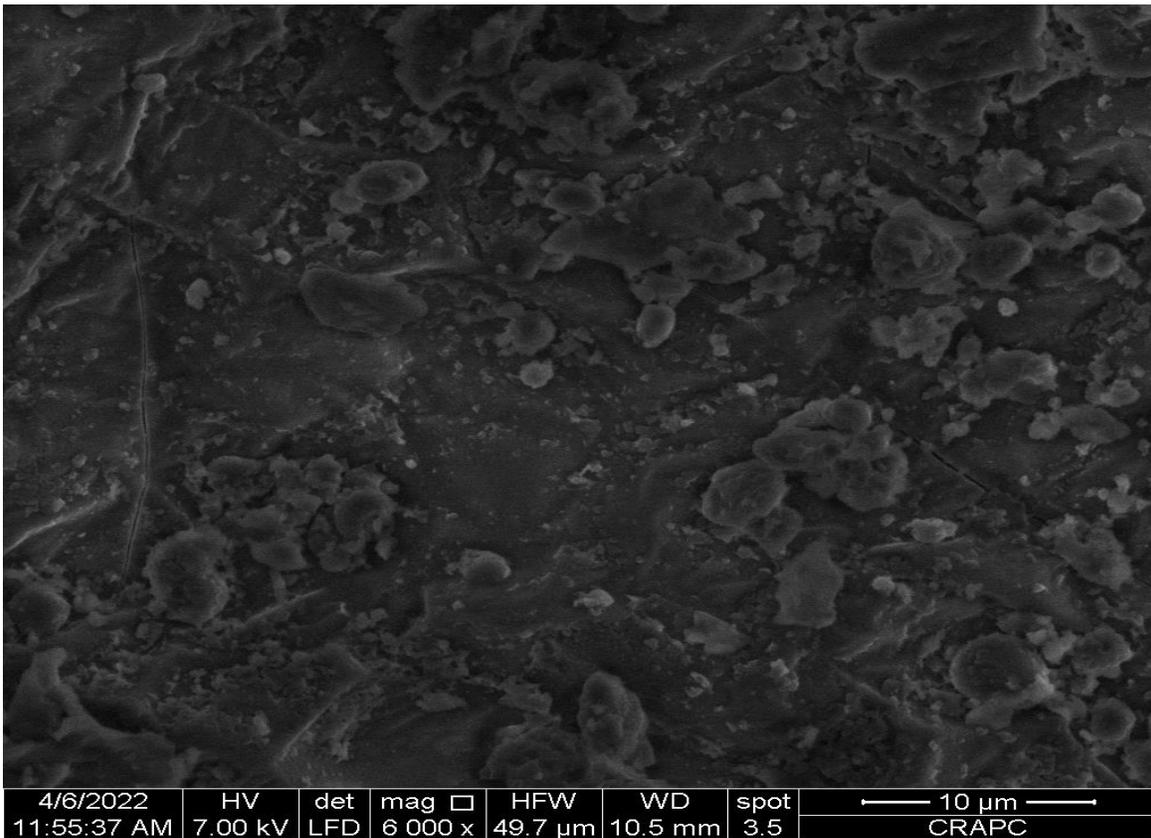
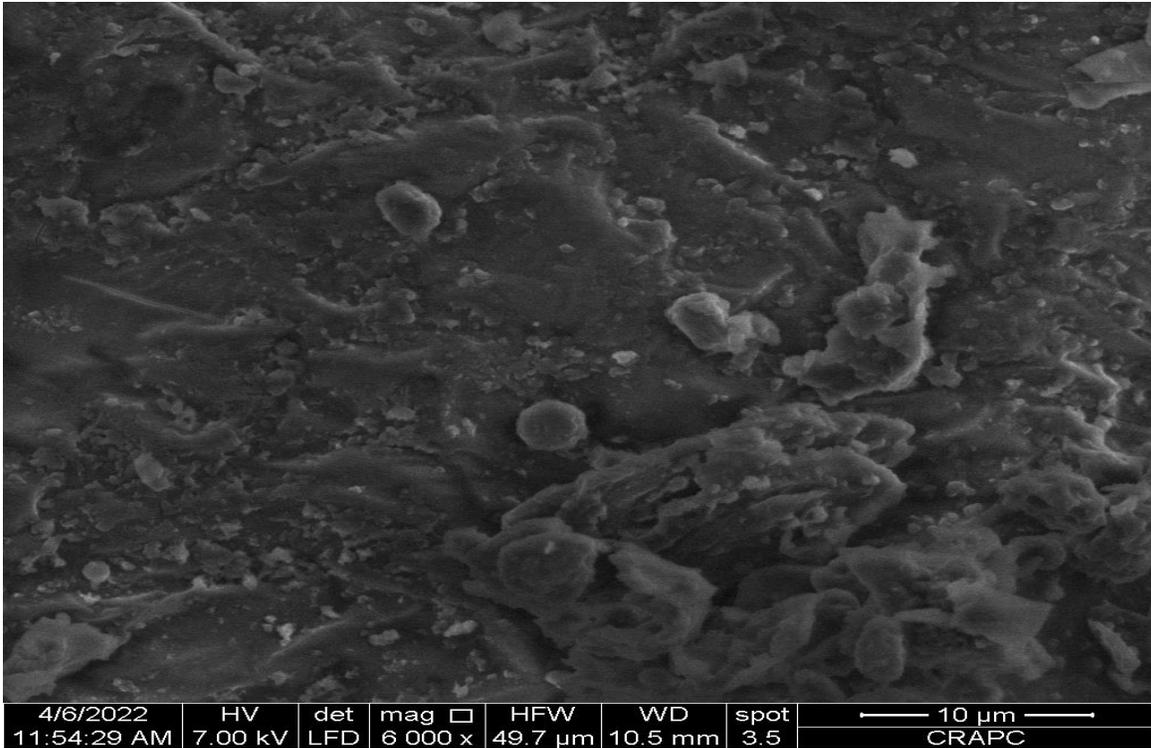


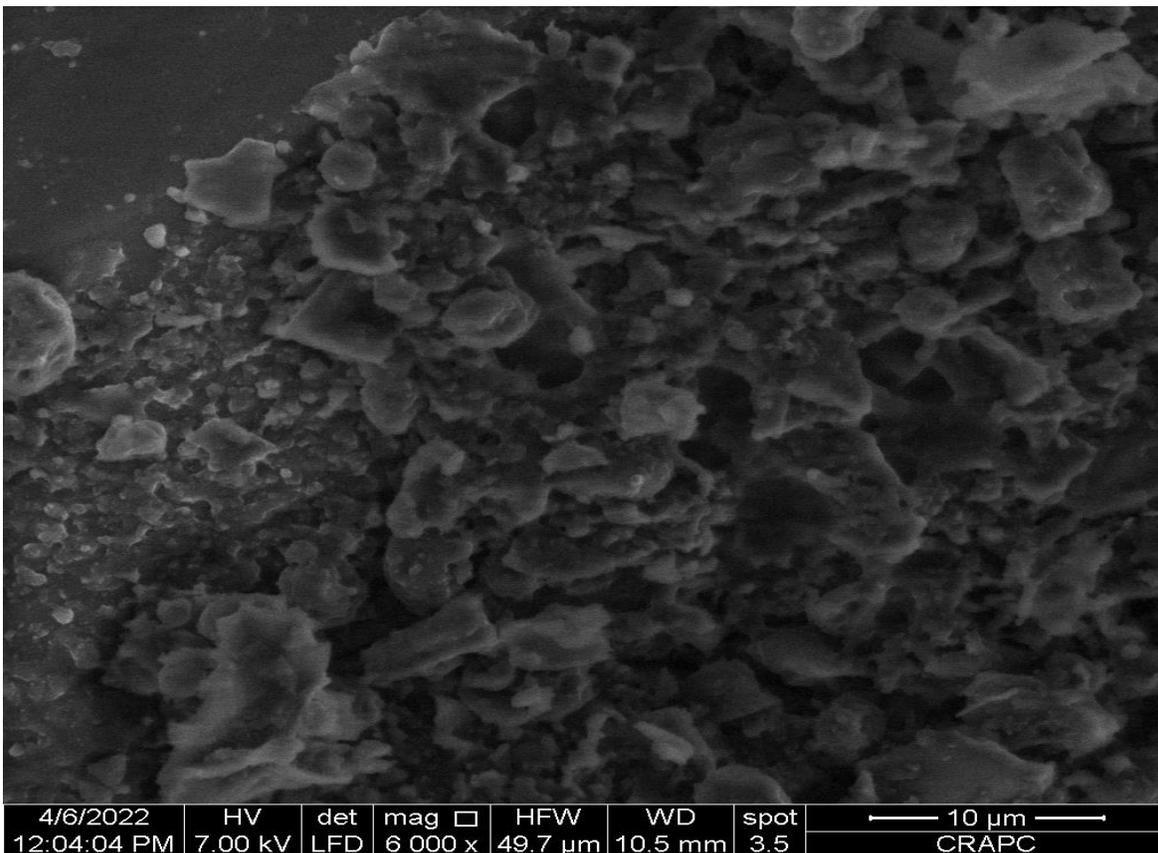
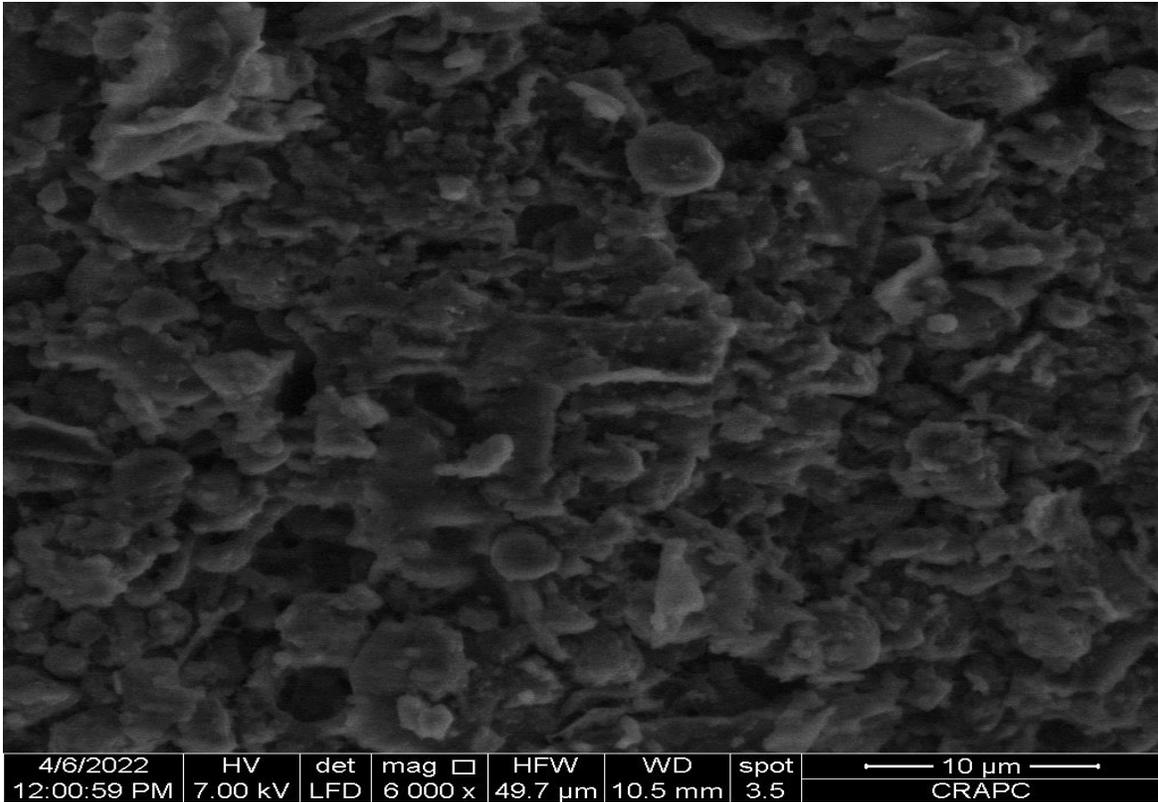
Après extraction

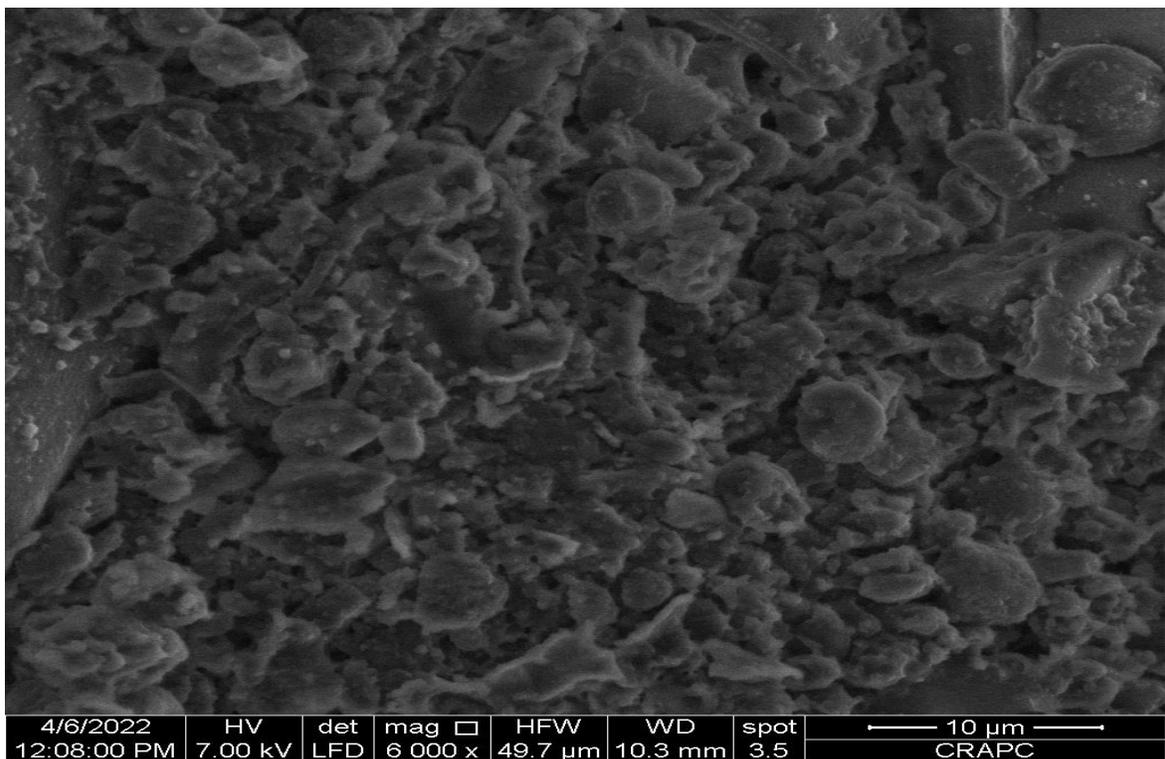
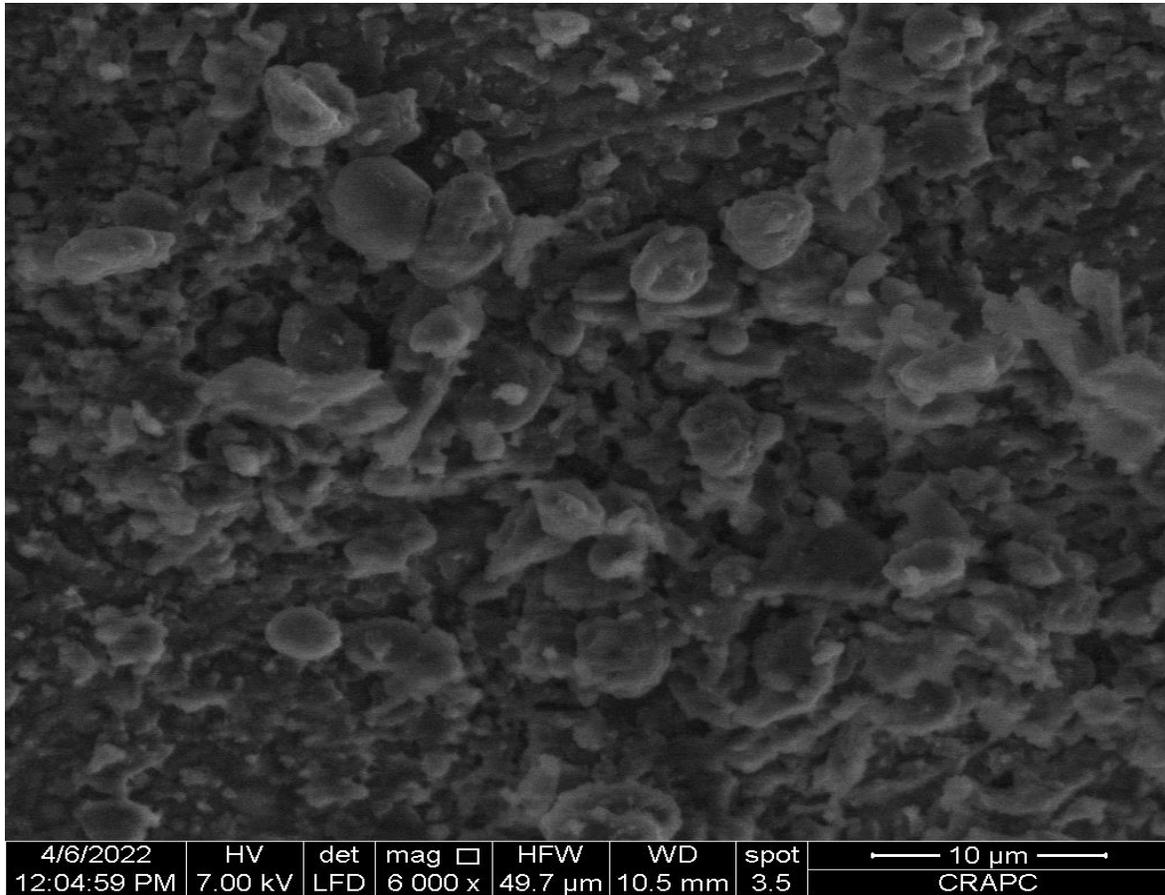






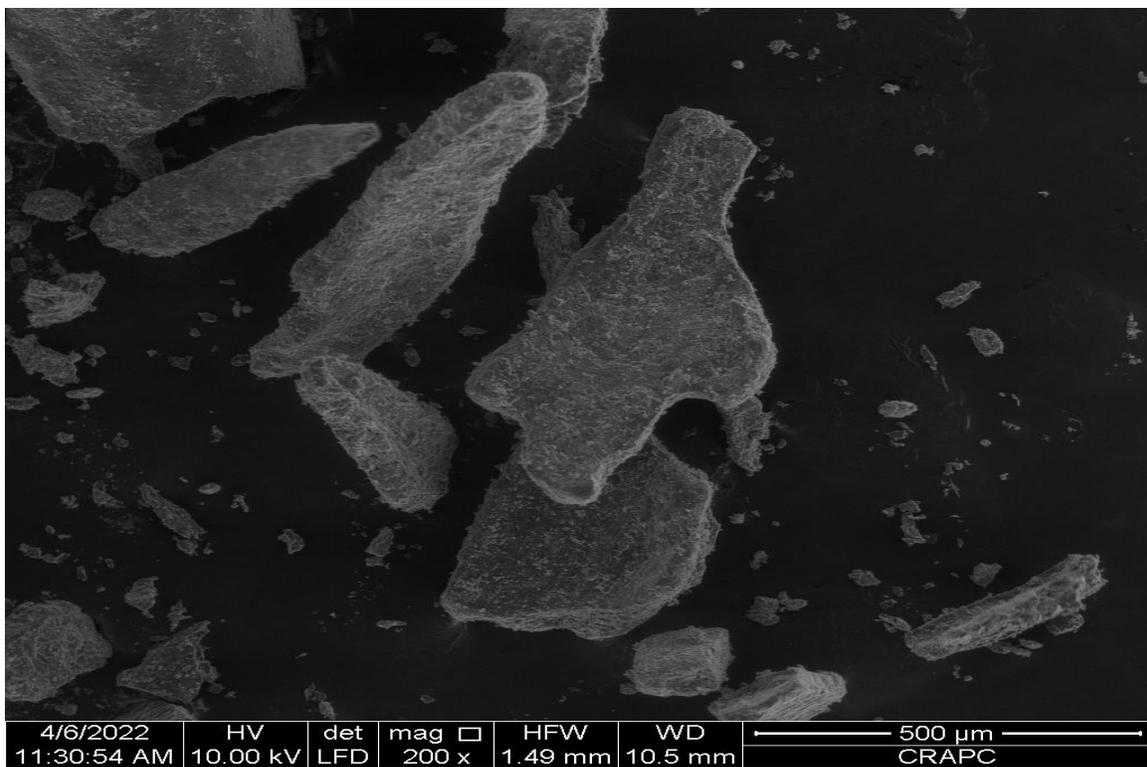
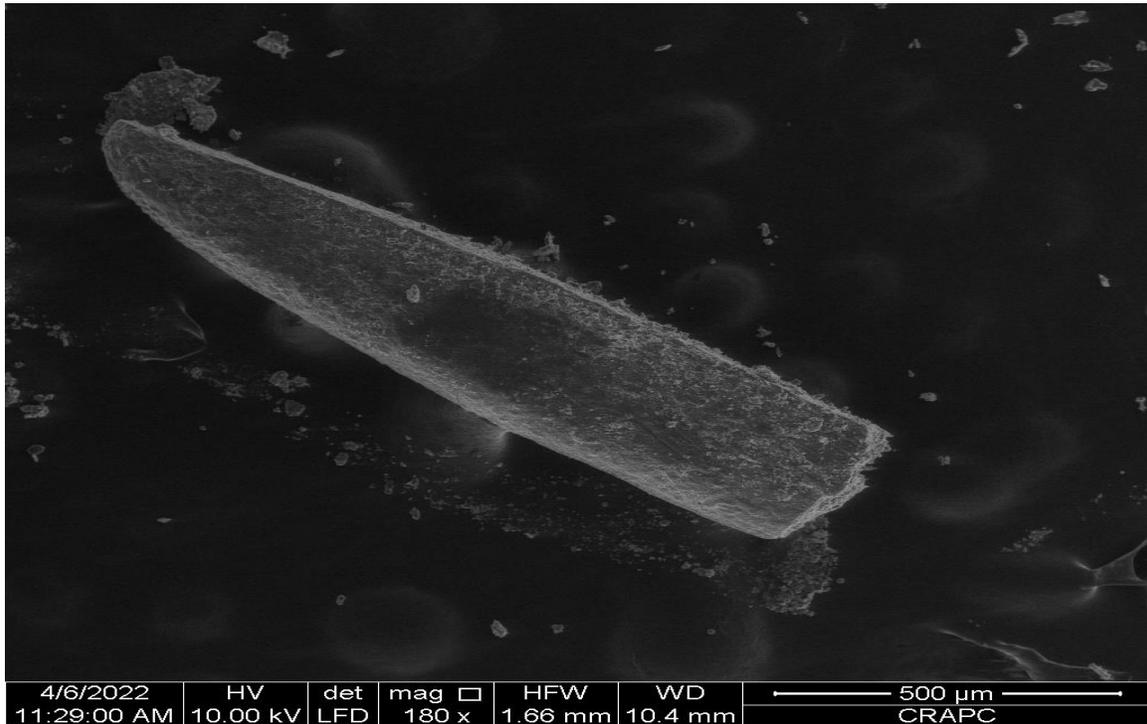


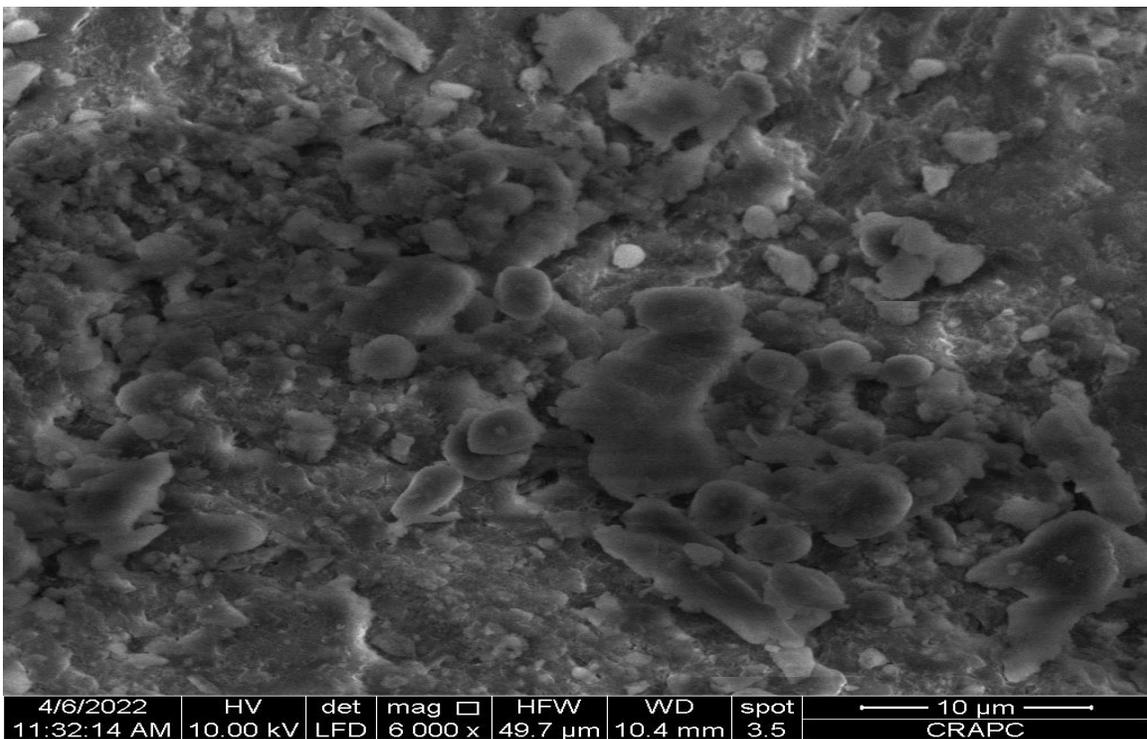
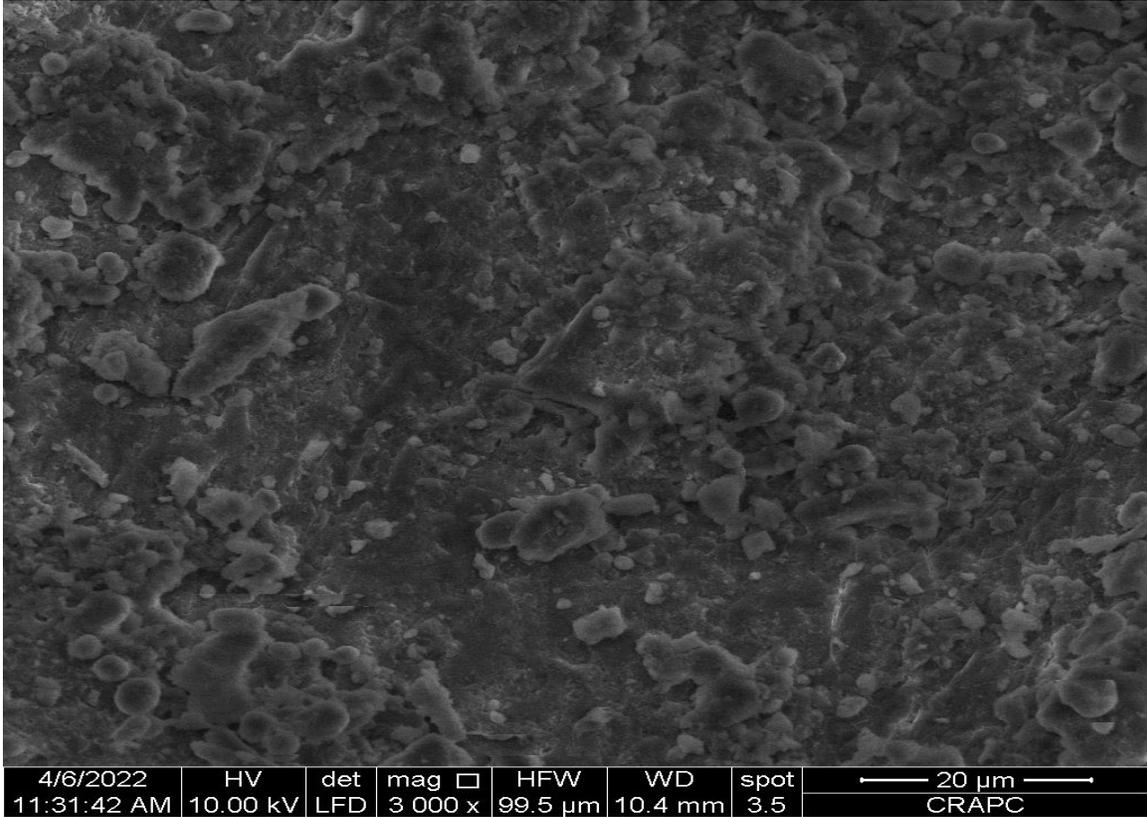


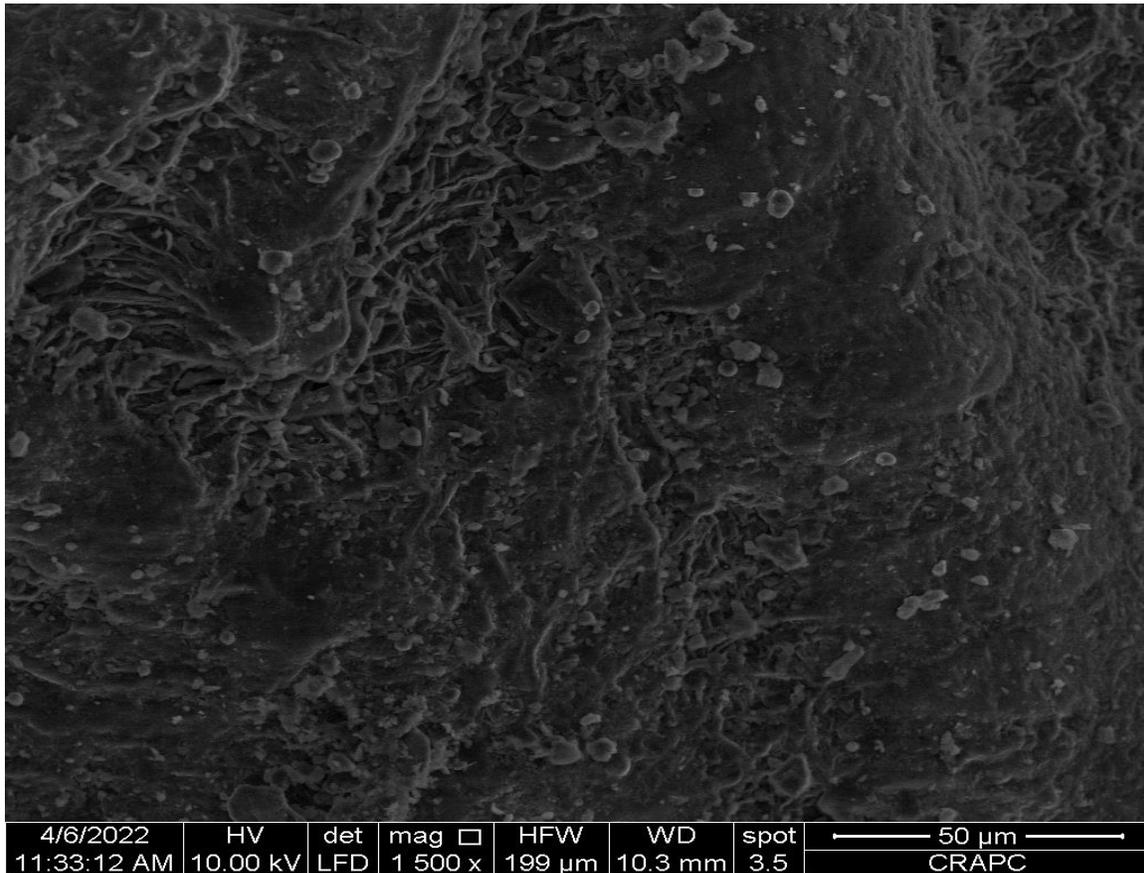


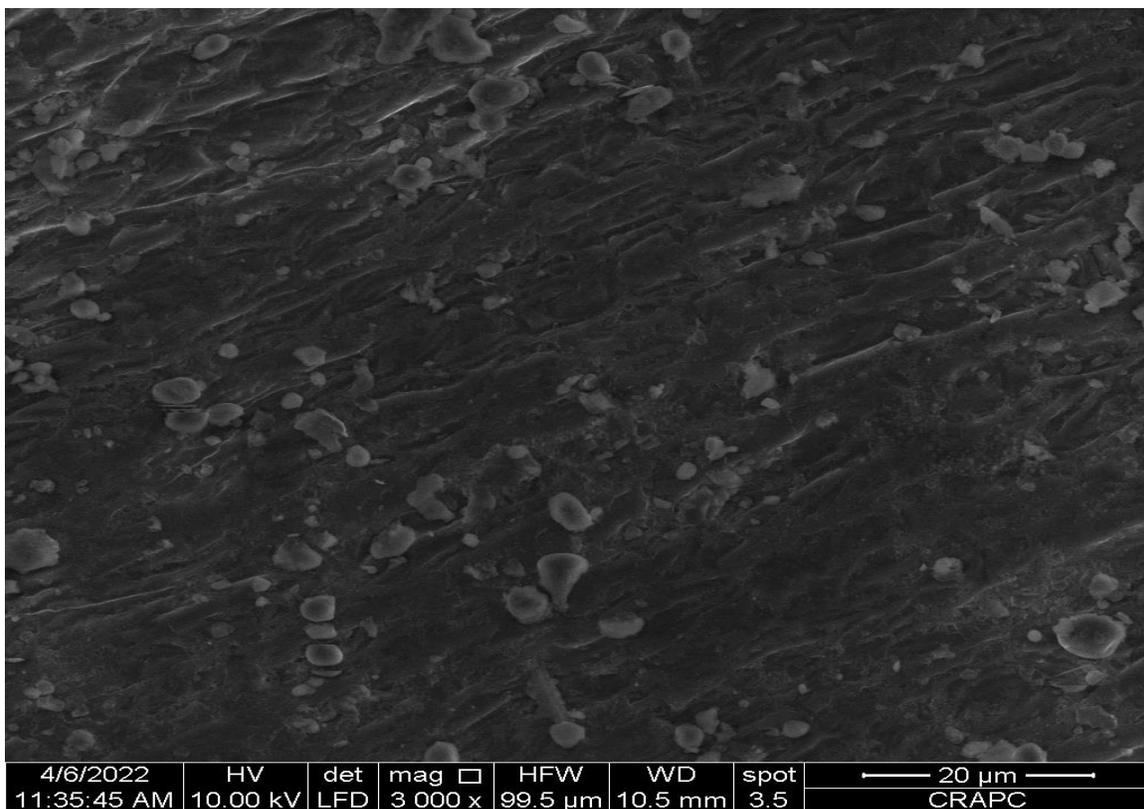
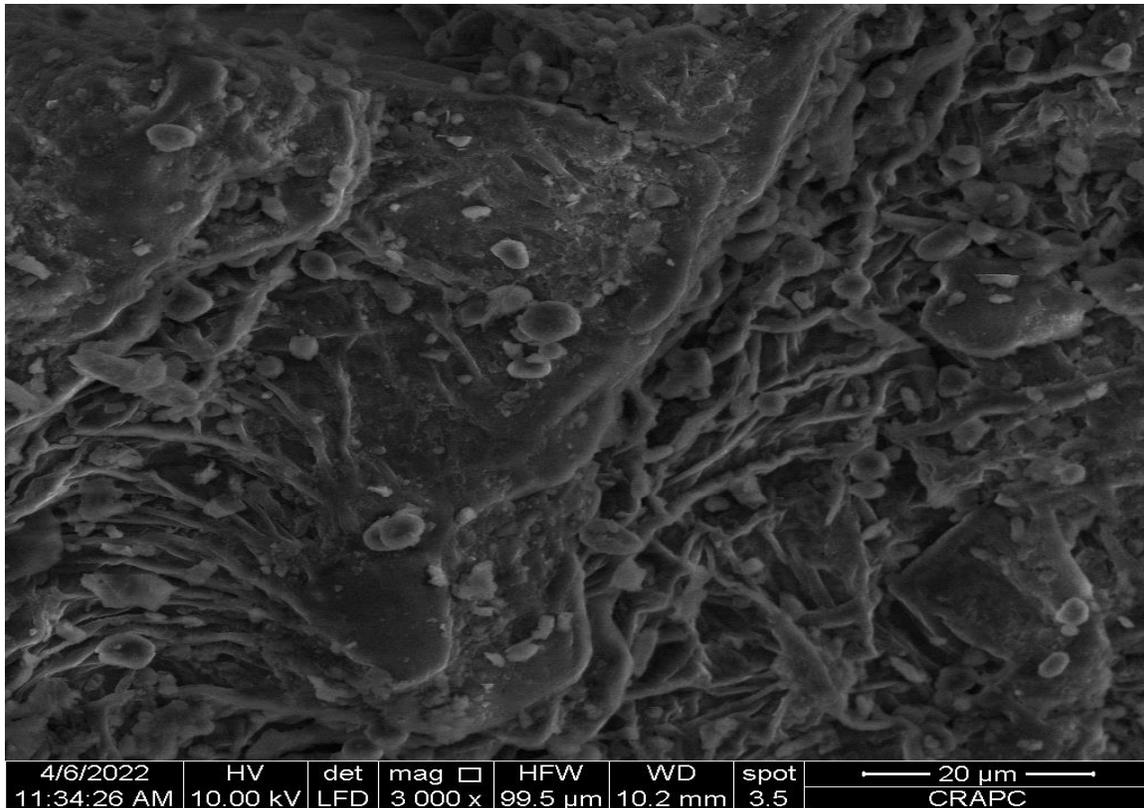
Cas de plantago ovata

Plantago ovata, 0.25 mm

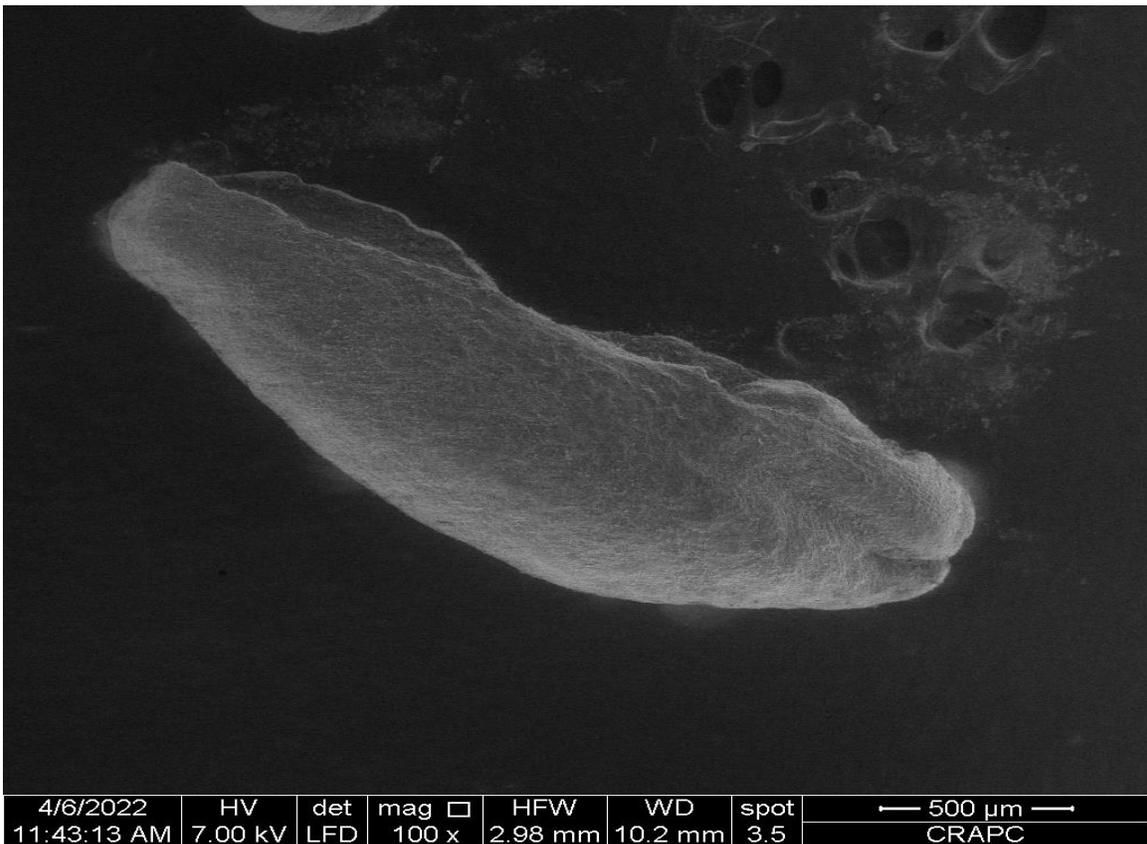
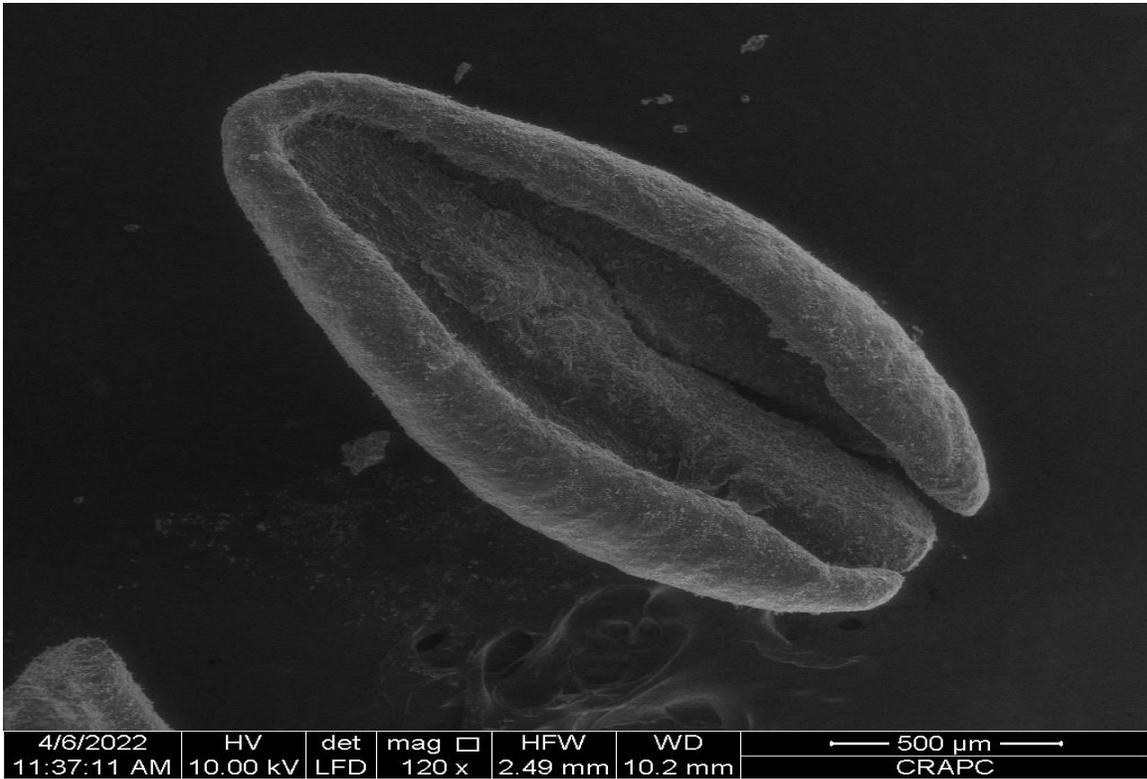


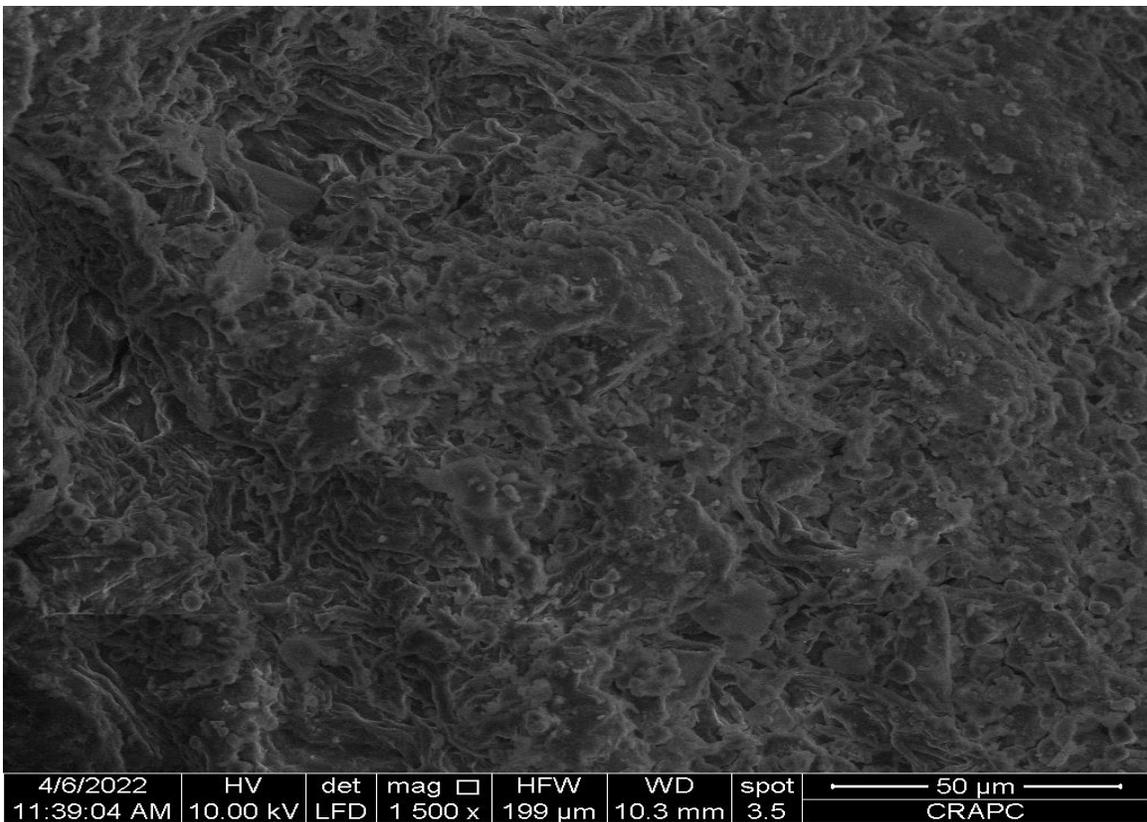
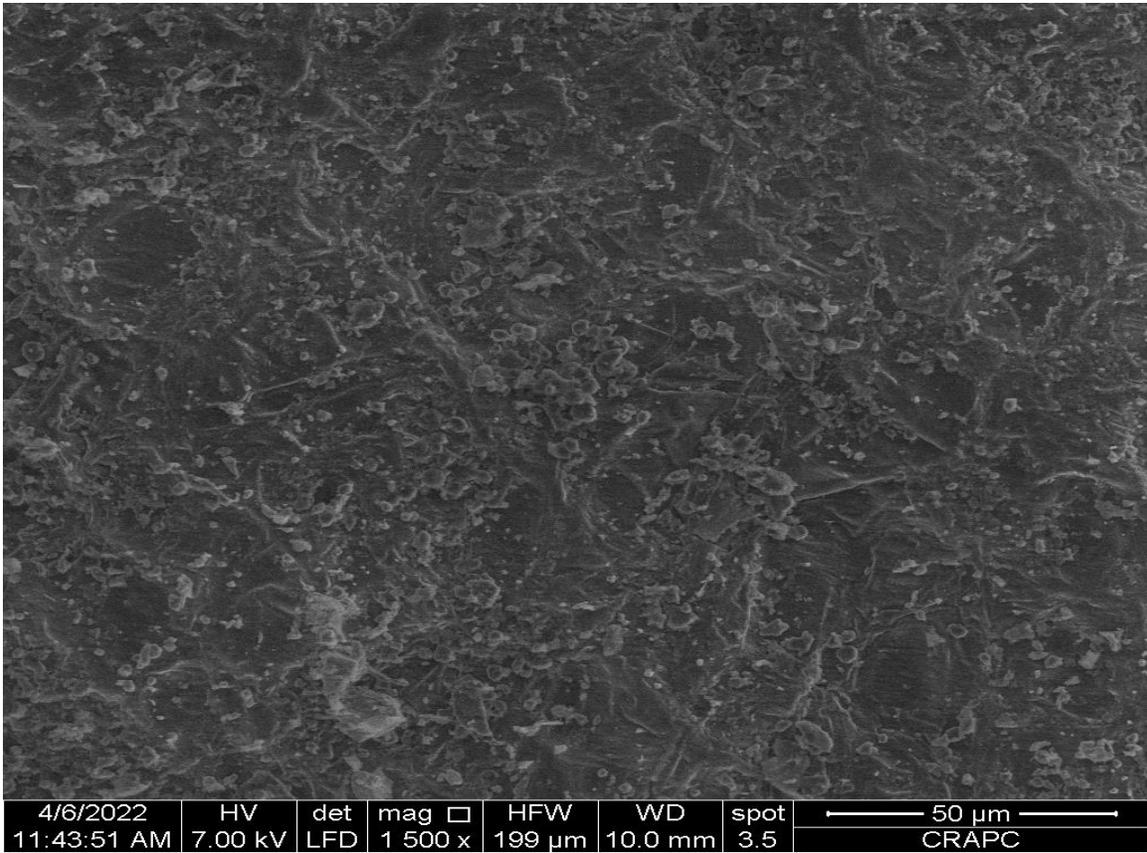


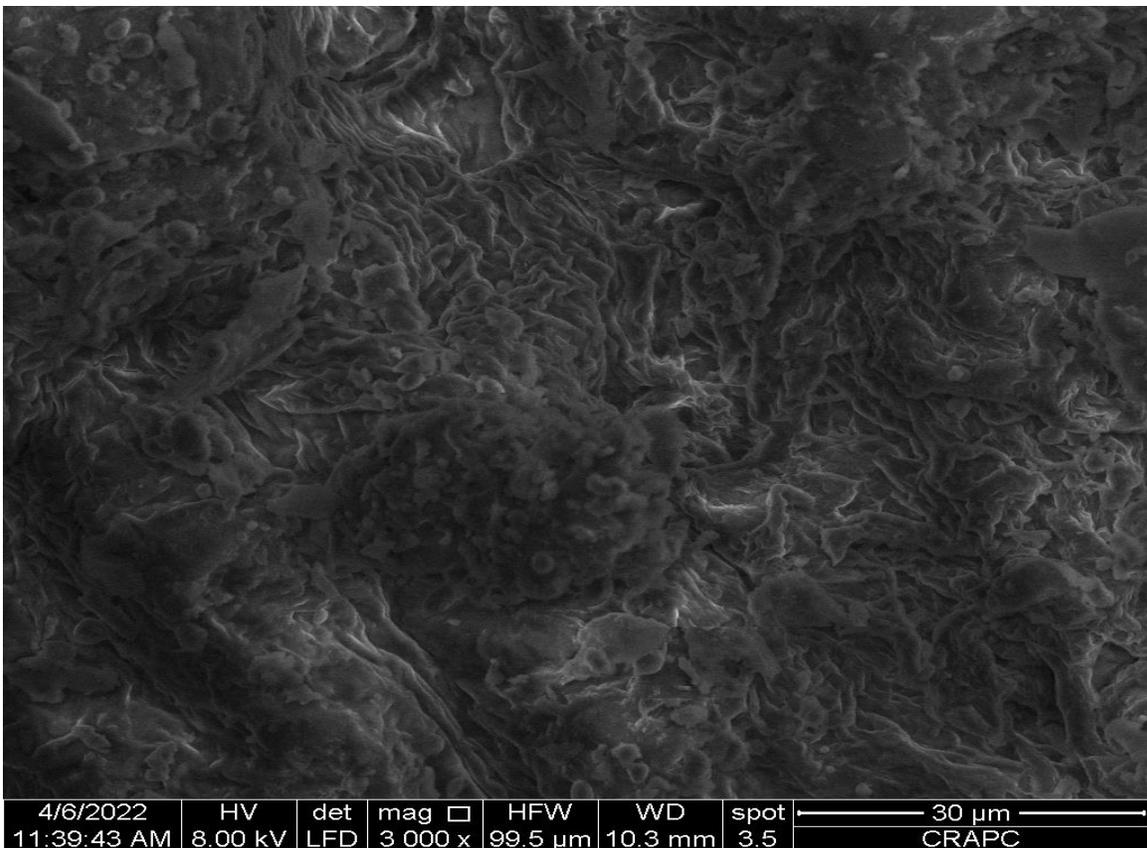
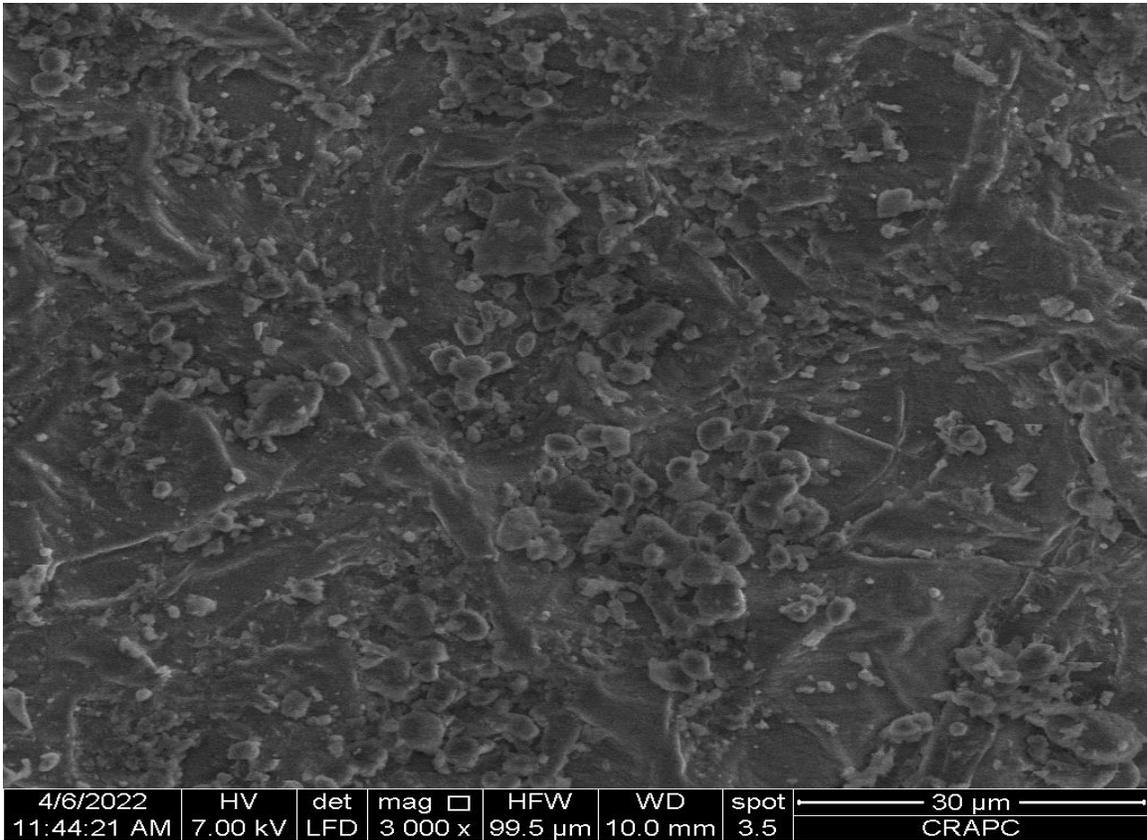


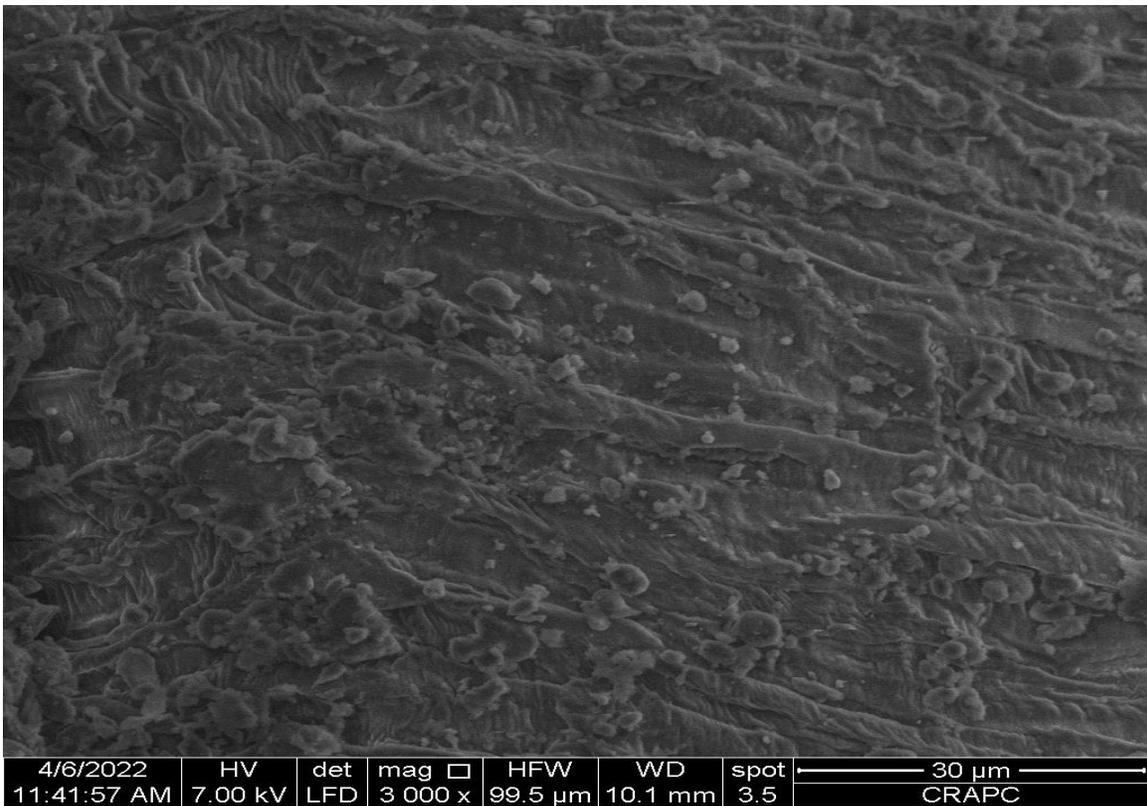
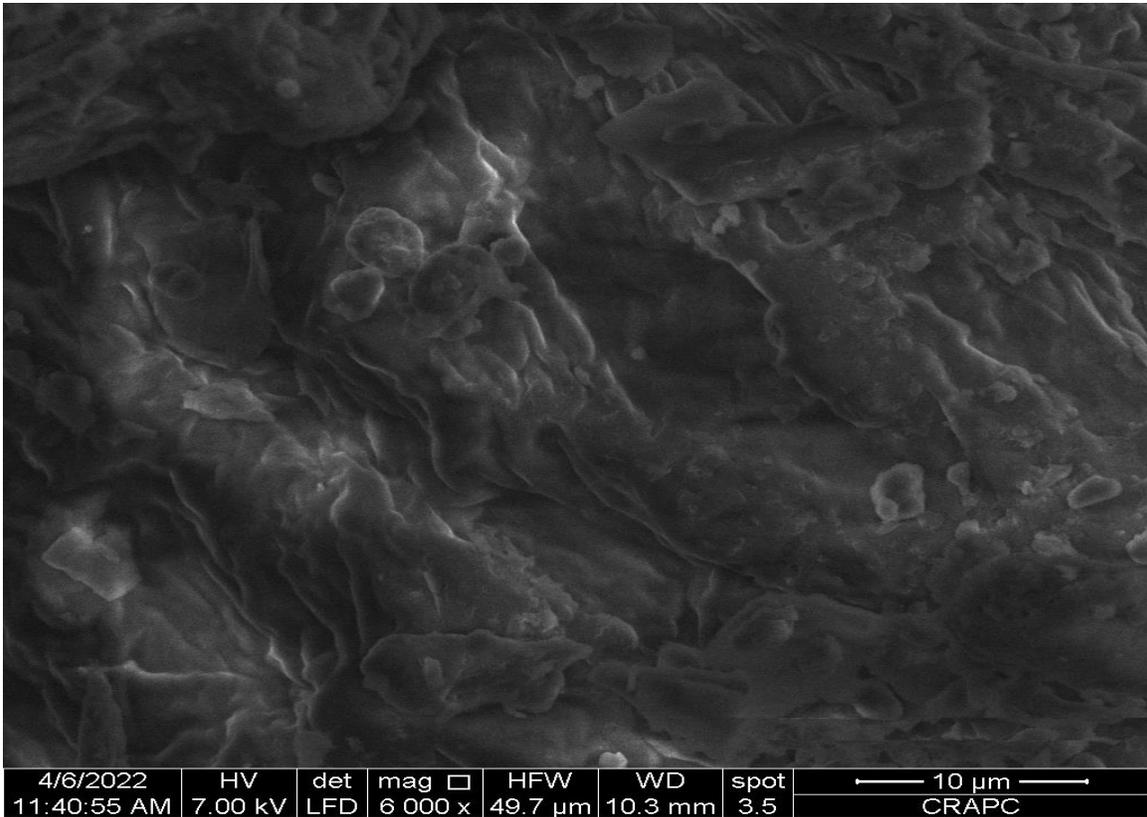


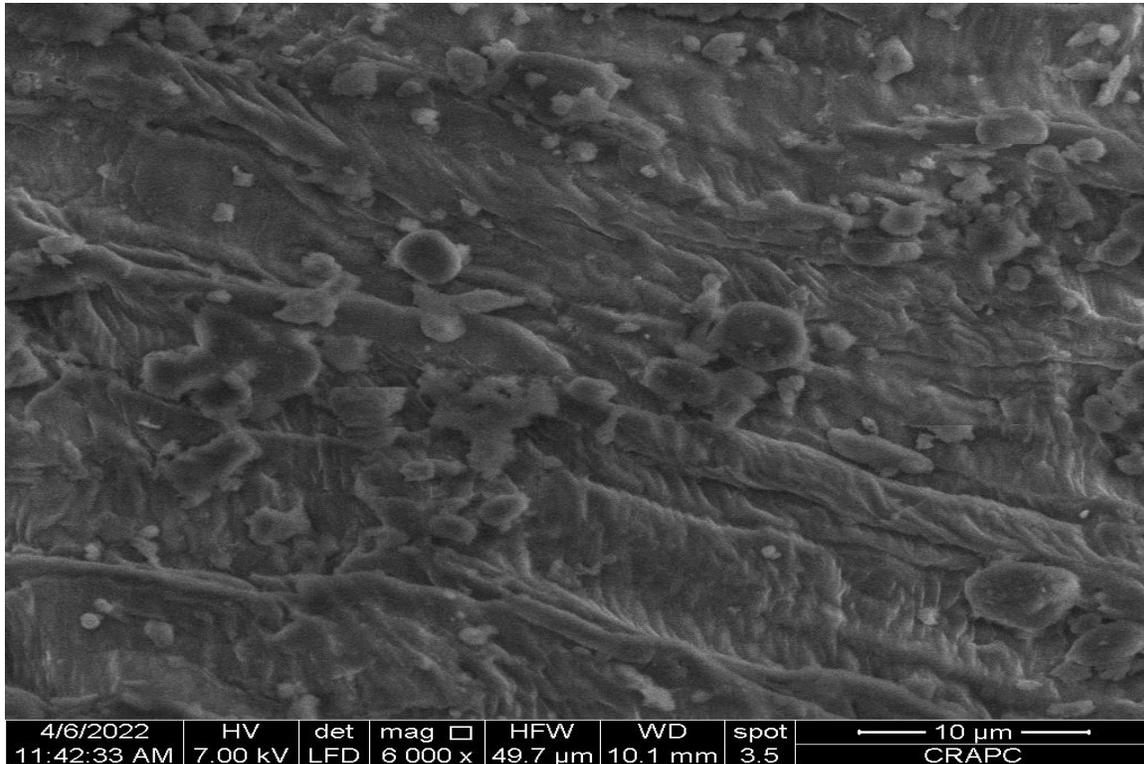
Plantago ovata 0.85 mm











Annexe B

Les différentes souches bactériennes et fongiques utilisées dans cette étude

B1. Les souches bactériennes utilisées :

B1.1 Staphylococcus aureus est une bactérie à Gram positif responsable de diverses infections chez les humains, allant des infections cutanées mineures telles que les furoncles jusqu'à des infections plus graves telles que les infections des voies respiratoires et les infections sanguines.

ATCC (American Type Culture Collection) est une organisation qui conserve et distribue des cultures microbiennes pour la recherche scientifique. Le numéro 25923 est l'identifiant spécifique attribué à la souche de Staphylococcus aureus conservée par ATCC.

B1.2 Bacillus subtilis (ATCC 6633) est une espèce de bactérie à Gram positif appartenant au genre Bacillus. Elle est largement étudiée et utilisée en raison de ses caractéristiques bénéfiques et de sa capacité à produire des enzymes et des composés d'intérêt industriel.

Bacillus subtilis est un organisme ubiquitaire, ce qui signifie qu'il peut être trouvé dans différents environnements tels que le sol, l'eau, l'air et même le tractus gastro-intestinal des animaux. Il est capable de survivre dans des conditions extrêmes et de former des spores résistantes pour se protéger de l'environnement hostile.

Elle est largement utilisée dans l'industrie alimentaire et dans la production d'enzymes et d'antibiotiques. En raison de sa capacité à sécréter des enzymes, il est utilisé dans la production d'amylases, de protéases et d'autres enzymes utilisées dans divers processus industriels.

Elle est considérée comme un organisme généralement sans danger. Il est utilisé en tant que probiotique et est présent dans de nombreux produits alimentaires fermentés.

B1.3 Escherichia coli (E. coli) est une bactérie Gram-négative qui fait partie de la famille des Enterobacteriaceae. Elle est souvent utilisée comme organisme modèle en microbiologie et en génétique en raison de sa facilité de culture et de son génome bien caractérisé. La souche spécifique ATCC 25922 se réfère à une souche de référence d'E. coli conservée dans la collection de l'American Type Culture Collection (ATCC).

E. coli est une bactérie commensale normalement présente dans le tractus intestinal des humains et des animaux. Certaines souches peuvent cependant être pathogènes et causer des infections gastro-intestinales.

B1.4 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) est une espèce de bactérie à Gram négatif, appartenant au genre *Pseudomonas*. Elle est largement répandue dans l'environnement et peut être trouvée dans le sol, l'eau et les surfaces humides. *Pseudomonas aeruginosa* est connue pour sa résistance naturelle à de nombreux antibiotiques, ce qui en fait un pathogène opportuniste et un problème majeur dans les infections nosocomiales.

Cette bactérie possède une résistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques. Elle peut également acquérir des résistances par des mécanismes de transfert de gènes, ce qui la rend difficile à traiter dans les infections.

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène opportuniste majeur, principalement associé aux infections nosocomiales, telles que les pneumonies nosocomiales, les infections des voies urinaires, les infections des plaies et les infections sanguines chez les patients immunodéprimés ou ayant des conditions médicales sous-jacentes.

B2. Les Champignons utilisés :

B2.1 *Fusarium oxysporum* est une espèce de champignon filamentous appartenant au genre *Fusarium*. Il est couramment présent dans le sol et peut causer diverses maladies chez les plantes, y compris la pourriture des racines, la flétrissure vasculaire et la pourriture des tiges.

B2.2 *Fusarium nivale* est une espèce de champignon filamentous appartenant au genre *Fusarium*. Il est connu pour être un agent pathogène des plantes, en particulier des céréales telles que le blé, l'orge et le seigle. *Fusarium nivale* peut provoquer une maladie connue sous le nom de fusariose des céréales d'hiver, qui peut entraîner des pertes de récolte significatives.

B2.3 *Fusarium proliferatum* est une espèce de champignon filamentous appartenant au genre *Fusarium*. Il est considéré comme un pathogène phytopathogène et peut également produire des mycotoxines nocives pour les plantes et les animaux.

B2.4 *Fusarium solani* est une espèce de champignon filamentous appartenant au genre *Fusarium*. Il est largement répandu dans le sol et peut causer des maladies chez diverses plantes,

y compris les cultures agricoles, les plantes ornementales et les arbres. *Fusarium solani* est un pathogène opportuniste capable de provoquer une large gamme de symptômes, en fonction de l'hôte infecté.

B2.5 *Alternaria sp.* désigne un groupe d'espèces de champignons filamenteux du genre *Alternaria*. Le genre *Alternaria* comprend de nombreuses espèces qui sont courantes dans l'environnement, notamment dans le sol, l'air et les plantes. Certaines espèces d'*Alternaria* peuvent être pathogènes pour les plantes, tandis que d'autres sont considérées comme des saprophytes, se nourrissant de matière organique en décomposition.

B2.6 *Aspergillus niger* est une espèce de champignon filamentous appartenant au genre *Aspergillus*. Il est largement répandu dans l'environnement, notamment dans le sol, l'air, les aliments et les matières organiques en décomposition. *Aspergillus niger* est bien connu pour sa capacité à produire des enzymes et des métabolites utiles, mais il peut également être un pathogène opportuniste et provoquer des infections chez les personnes immunodéprimées.

B2.7 *Candida albicans* est une levure commensale qui fait partie de la flore normale de nombreuses surfaces muqueuses du corps humain, telles que la bouche, le tube digestif et le système génito-urinaire. Cependant, dans certaines conditions, *Candida albicans* peut devenir pathogène et provoquer des infections fongiques, notamment les infections à levures, les infections des muqueuses et les infections systémiques.

En tant que pathogène, *Candida albicans* est capable de former des biofilms, de produire des enzymes destructrices de tissus et de déclencher des réponses immunitaires. Les infections à *Candida albicans* sont fréquentes chez les personnes immunodéprimées, les patients sous antibiotiques à large spectre, les patients atteints de diabète, les femmes enceintes, les personnes âgées et celles ayant des dispositifs médicaux implantés tels que les cathéters.

ANNEXE C

Courbes d'étalonnages

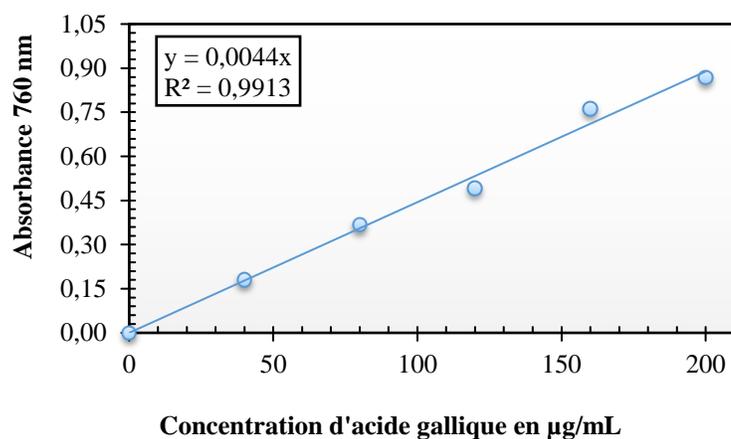


Figure 1C: Courbe d'étalonnage pour la détermination du TPC en utilisant l'acide gallique comme étalon.

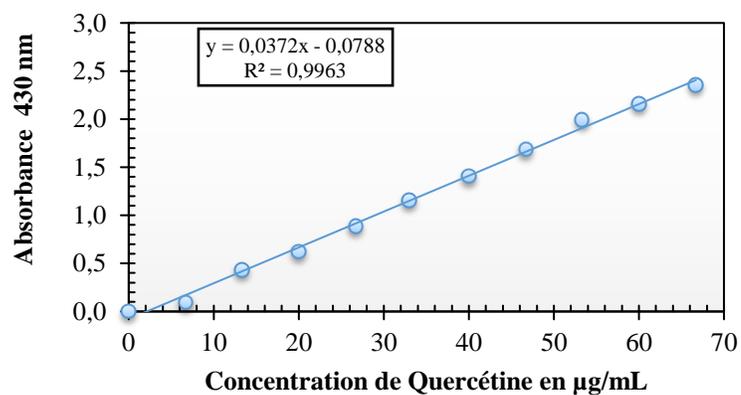


Figure 2C: Courbe d'étalonnage pour la détermination du TFC en utilisant la quercétine comme standard.

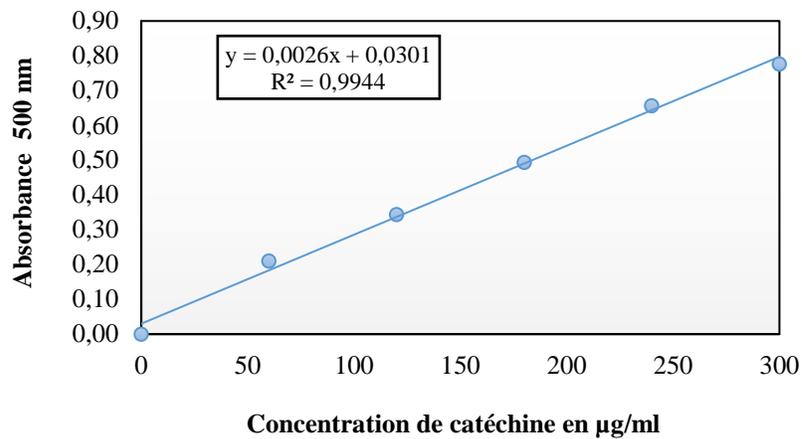


Figure 3C: Courbe d'étalonnage pour la détermination du TFC en utilisant la Catéchine comme standard.

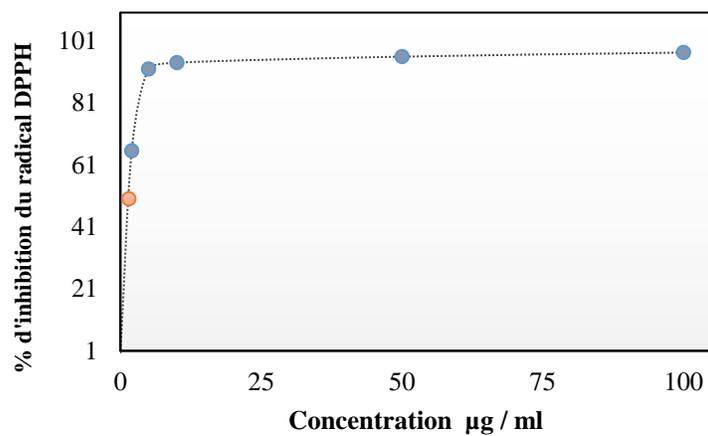


Figure 4C: Évolution de l'activité antiradicalaire de la Quercetine en fonction de la concentration (µg/ml).

Annexe D**Tableau 1:** Table de student**TEST DE STUDENT
BILATERAL**

	Risque 5 %	Confiance 95 %
v(DDL)	t(crit)	t(crit)
1	12,70	63,66
2	4,30	9,93
3	3,18	5,84
4	2,78	4,60
5	2,57	4,03
6	2,45	3,71
7	2,37	3,50
8	2,31	3,36
9	2,26	3,25
10	2,23	3,17
11	2,20	3,11
12	2,18	3,06
13	2,16	3,01
14	2,15	2,98
15	2,13	3,95
16	2,12	2,92
17	2,11	2,90
18	2,10	2,98
19	2,09	2,86
20	2,08	2,85

Analyse de la variance. Validation du modèle linéaire.

L'analyse de la variance est appelé « Analysis of Variance » dans la littérature Anglo-Saxonne ; son appellation est couramment abrégée en ANOVA. Cette méthode doit son nom au fait qu'elle utilise des mesures de variance afin de juger de la significativité des différences de moyenne mesurées entre populations.

D'une façon générale, en matière de régression, le principe de l'analyse de la variance est de subdiviser la variation totale en une composante factorielle relative à l'équation de régression ou au modèle utilisé, et une composante résiduelle, la première devant être testée par rapport à la deuxième. Les composantes factorielle et résiduelle seront mathématiquement représentées par des carrés moyens, c'est-à-dire des variances.

En définitive, l'intérêt de l'analyse de la variance est de pouvoir tester de manière absolue l'influence des facteurs sur les variations d'une réponse donnée.

On notera par la suite Y_i les réponses observées lors de la réalisation des expériences et Y_i^{est} la réponse estimée à l'aide du modèle linéaire. On notera, de même, Y_{moy} la moyenne des réponses. On définit alors trois types de "variations"

1- La variation due à la liaison linéaire (à la régression ou au modèle) :

$$SCEL = \sum (Y_i^{est} - Y_{moy})^2$$

SCEL se lit : "somme des carrés des écarts dues à la liaison".

2- La variation résiduelle :

$$SCER = \sum (Y_i - Y_i^{est})^2$$

SCER se lit : "somme des carrés des écarts des résidus".

3- La variation totale :

$$STCE = SCEL + SCER$$

STCE se lit : "somme totale des carrés des écarts".

On définit de plus un "carré moyen" : CM, qui est le quotient d'une somme de carrés par son degré de liberté.

SCEL aura $(p - 1)$ degrés de liberté, SCER aura $(n - p)$ degrés de liberté et SCET aura $(n - 1)$ degrés de liberté.

Tableau 2 :Le tableau « ANOVA »

Le tableau de l'analyse de variance se présente alors de la façon suivante :

Variation due à	Somme des carrés	DDL	Carré moyen	F	
Liaison	SCEL	$p - 1$	$\frac{SCEL}{p - 1} = CML$	$F_{obs} = \frac{CML}{CMR}$	$R^2 = SCEL/STCE$
Résidus	SCER	$n - p$	$\frac{SCER}{n - p} = CMR$		$R^2_{ajusté} = 1 - \frac{(SCER/(n - p))}{(STCE/(n - 1))}$ $= 1 - CMR/CMT$
Totale	SCET	$n - 1$	$\frac{SCET}{n - 1} = CMT$		

Tableau 3. TABLE DE FISCHER - SNEDECOR

	v_2	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20
v_1														
1		161	199,5	215,7	224,6	230,2	234	236,8	239	240,5	241,9	243,9	245,9	248
2		18,5	19	19,16	19,25	19,3	19,33	19,35	19,4	19,38	19,4	19,41	19,43	19,45
3		10,1	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,7	8,66
4		7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6	5,96	5,91	5,86	5,8
5		6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56
6		5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,1	4,06	4	3,94	3,87
7		5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44
8		5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,5	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15
9		5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94
10		4,96	4,1	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77
11		4,84	3,98	3,59	3,36	3,2	3,09	3,01	2,95	2,9	2,85	2,79	2,72	2,65
12		4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3	2,91	2,85	2,8	2,75	2,69	2,62	2,54
13		4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,6	2,53	2,46
14		4,6	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,7	2,65	2,6	2,53	2,46	2,39
15		4,54	3,68	3,29	3,06	2,9	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,4	2,33

16		4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28
17		4,45	3,59	3,2	2,96	2,81	2,7	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23
18		4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19
19		4,38	3,52	3,13	2,9	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16
20		4,35	3,49	3,1	2,87	2,71	2,6	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,2	2,12
21		4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,1
22		4,3	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,4	2,34	2,3	2,23	2,15	2,07
23		4,28	3,42	3,03	2,8	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,2	2,13	2,05
24		4,26	3,4	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,3	2,25	2,18	2,11	2,03
25		4,24	3,39	2,99	2,76	2,6	2,49	2,4	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01
26		4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99
27		4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,2	2,13	2,06	1,97
28		4,2	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96
29		4,18	3,33	2,93	2,7	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,1	2,03	1,94
30		4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93
40		4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2	1,92	1,84
60		4	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,1	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75
120		3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66
infini		3,84	3	2,6	2,37	2,21	2,1	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57

Tableau 4 : Analyse des résultats de variance pour les modèles quadratiques (CI₅₀).

Source	F-Value P-Value	
	IC ₅₀ (µg/ml)	
Modelle	18.57	0.002
Linéaire	19.13	0.004
d	6.51	0.051
T	42.36	0.001
P	8.51	0.033
Quadratique	20.11	0.003
d*d	23.26	0.005
T*T	14.81	0.012
P*P	19.56	0.007
2-Way	16.48	0.005

Interaction	
d*T	38.63 0.002
d*P	8.09 0.036
T*P	2.72 0.160
R-sq (%)	97.36
R-sq(adj) (%)	92.61

Annexe E**Tableau 1 :** Composants phytochimiques (acides gras) identifiés dans les graines de *Peganum harmala* par GC-MS.

	0.3 mm, 35 °C, 200bar			0.3 mm, 55°C, 200bar			0.3mm, 45°C, 300bar			0.3mm, 45°C, 100bar			0.3mm, 55°C, 300bar		
	Temp R	Aire %	%	Temp R	Aire %	%	Temp R	Aire %	%	Temp R	Aire %	%	Temp R	Aire %	%
1	Acide oxalique, ester cyclohexylméthyl- tridécylique			Dimethyl Sulfoxide			Éthanone, 1-(3,3- diméthylbicyclo[2. 2.1]hept-2-yl)-, exo-			Acide oxalique, ester cyclohexylméthyl- tridécylique			Acide oxalique, ester cyclohexylméthyl- tridécylique		
	27.388	0.31	0.69	4.019	0.18	0.93	20.312	0.12	0.23	27.361	0.41	0.87	27.379	0.38	0.88
2	Tétradécanoate de méthyle			Glycérine			Tétracontane, 3,5,24-triméthyl-			Tétradécanoate de méthyle			Tétradécanoate de méthyle		
	28.003	0.09	0.23	7.136	0.43	0.38	20.451	0.15	0.29	27.986	0.09	0.23	27.999	0.08	0.22
3	Hexadéc-9-énoate de méthyle			Acide oxalique, ester cyclohexylméthyl- tridécylique			Hexadécane			n-Nonadécanol-1			n-Nonadécanol-1 Hexadéc-9-énoate de méthyle		
	33.774	0.15	0.32	27.384	0.54	0.98	23.785	0.09	0.22	33.082	0.16	0.35	33.094	0.10	0.24
4	Hexadéc-9-énoate de méthyle			n-nonadécanol-1			Acide oxalique, ester cyclohexylméthyl- tridécylique			Hexadec-9-encate de méthyle			Hexadéc-9-énoate de méthyle		
	33.919	0.24	0.58	33.097	0.09	0.15	27.386	1.39	2.99	33.753	0.15	0.31	33.760	0.13	0.29
5	Acide hexadécanoïque, ester méthylrique			Hexadéc-9-énoate de méthyle			Tétradécanoate de méthyle			Hexadéc-9-encate de méthyle			Hexadéc-6-encate de méthyle		
	34.670	8.58	15.05	33.767	0.08	0.13	28.001	0.08	0.20	33.899	0.24	0.53	34.670	7.76	13.89
6	Décane, 5,6- bis(2,2- diméthylpropylidè ne), (E,Z)			Hexadéc-9-énoate de méthyle			Acide 9- octadécénoïque (Z)-, ester méthylrique			Acide hexadécanoïque, ester méthylrique			Décane, 5,6- bis(2,2- diméthylpropylidè ne)-, (E,Z)		
	36.214	0.20	0.44	33.915	0.14	0.26	33.761	0.14	0.28	34.655	8.85	14.59	36.207	0.25	0.57

7	Acide sulfureux, ester heptylique de cyclohexylméthyle			Acide hexadécanoïque, ester méthylique			Hexadéc-9-énoate de méthyle			5,6-bis 2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide sulfureux, ester heptylique de cyclohexylméthyle		
	36.439	0.12	0.28	34.622	5.87	9.94	33.910	0.21	0.50	36.196	0.25	0.53	36.427	0.16	0.36
8	Acide hexadécanoïque, 15-méthyl-, ester méthylique			Ester méthylique de l'acide (Z)-10-heptadécénoïque			Acide hexadécanoïque, ester méthylique			Acide sulfureux, ester de cyclohexylméthyle			Acide hexadécanoïque, 15-méthyl-, ester méthylique		
	36.597	0.12	0.28	36.995	0.11	0.18	34.654	7.92	14.52	36.422	0.16	0.31	36.594	0.11	0.28
9	Ester méthylique de l'acide (Z)-10-heptadécénoïque			Acide heptadécanoïque, ester méthylique			Acide hexadécanoïque, 15-méthyl-, ester méthylique			Acide c hexadécanoïque, 15-méthyl-, ester méthylique			Ester méthylique de l'acide (Z)-10-heptadécénoïque		
	37.001	0.14	0.34	37.742	0.12	0.24	36.588	0.11	0.26	36.585	0.13	0.29	36.998	0.13	0.33
10	Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z), ester méthylique			Ester méthylique de l'acide (Z)-10-heptadécénoïque			5,6-bis méthyl ester 2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)		
	37.620	0.45	0.98	39.961	37.52	32.22	36.996	0.19	0.37	36.987	0.14	0.32	37.616	0.51	1.15
11	Heptadécanoic acid, methyl ester			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)-			Ester méthylique de l'acide (2)-10-heptadécénoïque			Acide heptadécanoïque, ester méthylique		
	37.750	0.26	0.55	40.113	19.26	26.91	37.609	0.08	0.17	37.599	0.51	1.05	37.745	0.24	0.52
12	9,12-octadécadiénoate de n-propyle			Acide 9-octadécénoïque (Z), ester méthylique			Acide heptadécanoïque, ester méthylique			Heptadécanoïque			9,12-octadécadiénoate de n-propyle		
	40.047	48.06	24.33	40.211	1.51	2.94	37.742	0.22	0.48	37.739	0.27	0.53	40.015	41.67	21.84
13	Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Stéarate de méthyle			9,12-octadécadiénoate de n-propyle			9,12-octadécadiénoate de n-propyle			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)		
	40.258	22.71	24.56	40.795	3.54	6.00	40.011	45.59	26.33	40.006	47.86	23.56	40.246	19.63	21.89

14	Stéarate de méthyle			Acide cyclopropaneoctanoïque, 2-octyl-, méthyl			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)-			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Stéarate de méthyle		
	40.858	5.62	10.65	41.809	0.11	0.22	40.221	23.27	26.42	40.249	22.75	23.88	40.854	4.88	10.15
15	E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			Palmitate de glycidyle			Acide 9-octadécénoïque(Z)-, ester méthylique			Stéarate de méthyle			Acide cyclopropaneoctanoïque, 2-octyl-, méthyl ester		
	41.824	0.26	0.57	45.962	0.12	0.17	40.530	0.14	0.12	40.844	5.75	10.78	41.825	0.21	0.49
16	Acide cyclopropaneoctanoïque, 2-octyl-, méthyl ester, cis			Acide 11-eicosénoïque, ester méthylique			Stéarate de méthyle			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			Acide cyclopropaneoctanoïque, 2-octyl-, méthyl ester, cis		
	42.898	0.11	0.25	46.173	0.39	0.53	40.833	5.18	10.59	41.812	0.30	0.65	42.893	0.11	0.22
17	Acide 11,14-eicosadiénoïque, ester méthylique			Acide eicosanoïque, ester méthylique			Acide 13-docosénoïque, ester méthylique			acide écogronawctanoïque, 2-octyle, ester méthylique, cis			5,13-docosadiénoate de méthyle		
	45.992	0.14	0.22	47.157	1.01	1.29	41.814	0.26	0.49	42.882	0.11	0.25	45.145	0.07	0.15
18	Acide 11-eicosénoïque, ester méthylique			13,16-docosadiénoate de méthyle			Acide cyclopropaneoctanoïque, 2-octyl-, méthyl ester, cis			Acide 8,11-eicosadiénoïque, ester méthylique			Acide 11-eicosénoïque, ester méthylique		
	46.186	0.72	1.15	47.575	0.16	0.23	42.884	0.12	0.23	45.955	0.15	0.16	45.980	0.24	0.41
19	Acide eicosanoïque, ester méthylique			9,12-octadécadiénoate de butyle			Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacotane, 1(22),7(16)-diépoxy-			11-acide eicosénoïque, ester méthylique			Acide eicosanoïque, ester méthylique		
	47.181	1.67	2.60	47.997	0.21	0.33	45.141	0.07	0.14	46.166	0.79	1.13	46.175	0.65	1.02
20	13,16-docosadiénoate de méthyle			Acide oléique, ester butylique			acide cis-11,14-eicosadiénoïque, ester méthylique			Acide eicosanoïque, ester méthylique			13,16-docosadiénoate de méthyle		
	47.583	0.09	0.18	48.155	0.08	0.14	45.984	0.09	0.15	47.165	1.83	2.78	47.174	1.36	2.28

21	Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylique)			Acétate de linoléyle			Acide 11-eicosénoïque, ester méthylique			1-naphtalénoïl, décalydré-4a-méthyl			Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylique)		
	49.154	0.11	0.25	50.573	0.66	1.63	46.180	0.79	1.09	47.565	0.10	0.18	47.576	0.09	0.17
22	Acide hénéicosanoïque, ester méthylique			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, oxiranylméthyle ester			Acide eicosanoïque, ester méthylique			Ester bis(2-éthylhexylique) d'acide hexanedioïque a			Acide hénéicosanoïque, ester méthylique		
	49.804	0.10	0.25	50.658	0.54	1.00	47.169	1.53	2.42	49.140	0.12	0.30	49.151	0.06	0.15
23	Acétate de linoléyle			1-hexacosanol			13,16-docosadiénoate de méthyle			Acide hénéicosanoïque, ester méthylique			Acétate de linoléyle		
	50.579	0.86	2.21	50.917	0.27	0.63	47.568	0.08	0.13	49.788	0.12	0.27	49.797	0.07	0.19
24	Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			Ester glycidyle de l'acide myristique			9,12-octadécadiénoate de butyle			Acétate de linoléyle			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, oxiranylméthyle ester		
	50.662	0.74	1.34	51.093	0.08	0.17	48.007	0.42	0.85	50.567	0.46	1.16	50.585	1.69	4.23
25	1-Hexacosanol			20-méthyl-hénéicosanoate de méthyle			Acide oléique, ester butylique			Acide 9-octadécénoïque (Z), ester d'oxiranylméthyle			1-Hexacosanol		
	50.920	0.20	0.51	51.538	0.46	1.26	48.163	0.17	0.36	50.651	0.44	0.72	50.664	1.37	2.84
26	Ester glycidyle de l'acide myristique			1,1,6-triméthyl-3-méthylène-2-(3,6,9,13-tétraméthyl-6-éthényl-10,14-diméthyl)			Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylique)			1-Hexacosanol			Palmitate de glycidyle		
	51.098	0.13	0.25	52.345	0.77	0.36	49.149	0.15	0.39	50.910	0.29	0.76	50.916	0.30	0.69
27	20-méthylhénéicosanoate de méthyle			2-(4,8,12-triméthyltridécylo)triophène			1-Hexacosanol			Palmitate d'octane-2-yle			20-méthyl-hénéicosanoate de méthyle		
	51.544	0.88	2.90	52.515	0.30	0.38	50.917	0.11	0.27	51.130	0.18	0.35	51.093	0.26	0.46

28	Campesterol			Ergost-5-en-3-01 (3.beta.)			Acide érucique			20- méthylhénicosan oate de méthyle			Campesterol		
	52.771	0.43	0.47	52.810	1.33	0.86	51.126	0.08	0.13	51.534	1.01	3.27	51.539	0.64	2.26
29	20-méthyl- docosanoate de méthyle			20-méthyl- docosanoate de méthyle			20- méthylhénicosan oate de méthyle			Campesterol			Methyl 20- methyl- docosanoate		
	52.890	0.19	0.61	52.881	0.81	0.87	51.539	0.78	2.70	52.788	0.55	0.58	52.775	0.16	0.19
30	3-n- butylthiophène- 1,1-dioxyde			3-n- butylthiophène- 1,1-dioxyde			Campesterol			20-méthyl- docosanoate de méthyle			3-n- butylthiophène- 1,1-dioxyde		
	53.165	0.10	0.23	53.158	1.22	0.58	52.780	0.19	0.20	52.885	0.24	0.68	52.881	0.21	0.55
31	Pentafluoropropio nate d'octacosyle			Lup-20(29)-ène- 3.21-dione, 28- hydroxy			20-méthyl- docosanoate de méthyle			1- naphthalènepropan ol, alpha- éthényldécahydro- 2-hydroxy			EZ-1.3.12- nonadécatriène		
	53.678	0.08	0.18	53.682	6.71	1.77	52.883	0.16	0.52	53.197	0.40	0.44	53.165	1.34	0.81
32	Stigmasterol			Stigmastanol			3,3a- époxydicyclopenta [a,d]cyclooctan- 4.beta.-ol, 9,10a- diméthyl-6- méthylène			1-Hexacosanol			Ester méthylique de l'acide tétracosanoïque		
	53.849	0.24	0.26	54.522	0.79	0.32	53.683	1.80	0.86	53.663	0.13	0.39	53.607	5.63	2.33
33	Acide tétracosanoïque, ester méthylique			Bétuline			Acide tétracosanoïque, ester méthylique			Stigmasterol			Ester bis(2- éthylhexylique) de l'acide 1,3- benzénedicarboxyl ique		
	54.135	0.31	1.06	55.276	5.29	1.34	54.130	0.37	0.86	53.875	0.27	0.33	54.130	0.89	1.37
34	3bêta-acétoxyilup- 20(29)-ène-28- oate de méthyle			gamma-Sitostérol			Lanosta-8,24- dien-3-ol, acétate, (3.beta.)-			Acide tétracosanoïque, ester méthylique			Lanosta-8,24- dien-3-ol, acétate, (3 bêta)		
	55.301	0.31	0.29	55.974	2.32	1.35	54.841	5.20	1.31	54.125	0.39	1.34	34.375	0.23	0.44

35	2.6.10.14.18-pentaméthyl-2.6.10.14.18-eicosapentaène			9.19-Cyclo-27-norlanostan-25-one. 3-(acétyloxy)-24-méthyl-, (3.beta.,24R)			gamma.-Sitostérole			Ester bis(2-éthylhexylique) d'acide 1,4-benzènedicarboxylique			2,2,4-triméthyl-3-(3.8.12.16-tétraméthyl-heptadécyl-3.7.11.15-tétraem		
	55.521	0.14	0.43	56.530	4.98	2.13	55.966	0.81	0.82	54.369	0.10	0.27	54.843	3.90	1.23
36	gamma-Sitosterol			Acide cyclopropaneoctanoïque. 2-octyl-, méthyl ester			Cholest-7-èn-3-ol, 14-méthyl-, (3.beta.)			Squalène			gamma-Sitostérol		
	55.958	1.42	1.52	56.993	0.52	0.27	56.527	0.98	0.60	55.509	0.48	1.33	55.530	1.67	1.02
37	9.19-Cyclo-27-norlanostan-25-one. 3-(acétyloxy)-24-méthyl-, (3.beta.,24R)			delta-Tocophérole			Acide hexacosanoïque, ester méthylique			gamma-Sitostérol			Hexacontane		
	56.531	2.62	1.80	57.488	0.64	0.39	57.105	0.11	0.11	55.945	1.77	1.80	55.939	0.87	0.69
38	delta-Tocopherol			Bétulimaldéhyde			Delta. Tocophérol			Hexacontane			Delta. Tocophérol		
	57.488	0.36	0.57	57.966	0.25	0.15	57.486	0.61	1.18	56.525	0.70	0.94	56.555	0.60	0.51
39	9.19-cyclolanost-23-ène-3,25-diol. (3.beta.,23E)			9.19-Cyclo-9 bêta-lanostane-3 bêta. 25-diol			9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol, (3.beta.)			Delta. Tocophérol			Hexadéc-9-énoate de méthyle		
	57.958	0.18	0.18	58.832	0.40	0.26	58.816	0.16	0.13	57.476	0.65	1.28	33.912	0.22	0.53
40	9.19-Cyclo-9 bêta-lanostane-3.beta..25-diol			Lanostérol			Lanostérol			9.19-Cyclo-9 bêta-lanostane-3 bêta. 25-diol			Palmitate de glycidyle		
	8.82	0.57	0.42	59.288	0.15	0.11	59.256	0.10	0.10	58.773	0.69	0.51	45.980	0.24	0.41

Tableau 2: Composés identifiés dans les graines de *Peganum harmala* par GC-MS (Protocole 2).

<i>Peganum harmala</i>			
Extraction par Soxhlet		Extraction par CO2 supercritique	
Composés	T _R	Composés	T _R
1	Cyclopentanol (C ₅ H ₁₀ O)	N.I	33.827
2	Acide palmitique (acide hexadécanoïque) C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Acide 9,12-octadécadiénoïque, (z,z)	36.223
3	N.I	9-octadécénamide,(z-)(oléoamide)C ₁₈ H ₃₅ ON	39.044
4	Ester méthylique de l'acide 9,12-octadécadiénoïque (E,E) C ₁₉ H ₃₄ O ₂	Ester dioctylique hexanedioïque C ₂₂ H ₄₂ O ₄	39.499
5	1,16-Hexadécane diol (C ₁₆ H ₃₄ O ₂)	N.I	40.584
6	Acide oléique (acide 9-octadécénoïque(z-))	Ester cyclohexylméthylonylique de l'acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique C ₂₄ H ₄₂ O ₄	42.945
7	Artefacts d'harmaline (dihydro) C ₁₃ H ₁₆ ON ₂	Adide 1,3-benzènedicarboxylique, ester de bis(2-éthylhexyle) C ₂₄ H ₃₈ O ₄	43.460
8	Harmaline C ₁₃ H ₁₄ ON ₂	Acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique, ester de dinonyle C ₂₅ H ₄₈ O ₂	43.831
9	Harmine C ₁₃ H ₁₂ ON ₂	Ester cyclohexylméthylonylique de l'acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique C ₂₄ H ₄₂ O ₄	44.146
10	9-octadécénamide,(z-)(oléoamide)C ₁₈ H ₃₅ ON	Ester 2,5-dichlorophénylmonylique de l'acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique C ₂₃ H ₃₂ O ₄ Cl ₂	44.541
11	Ester bis(2-éthylhexylique) d'acide hexandioïque C ₂₂ H ₄₂ O ₄	2H-1-Benzopyran-6-ol,3,4-dihydro-2,8-déméthyl-2-(4,8,12-triméthyl)C ₂₇ H ₄₅ O ₂	46.452
12	N.I	/	/
13	Oxyde de triphénylphosphine C ₁₈ H ₁₅ OP	/	/
14	Oxyde de phosphine, diphenyl(phénylméthyl) C ₁₉ H ₁₇ OP	/	/
15	Adide 1,3-benzènedicarboxylique, ester de bis(2-éthylhexyle) C ₂₄ H ₃₈ O ₄	/	/
16	Cholesta-3,5-diène C ₂₇ H ₄₄	/	/

Annexe F**Tableau 1** :Composition en acides gras de l'huile de graines de *Plantago ovata* par GC-MS.

	0.25mm,40°C,200bar (E1)			0.25mm,60°C,200bar (E2)			0.25mm,50°C,200bar (E3)			0.25mm,50°C,300bar (E4)			0.25mm,60°C,239bar (E5)		
	T _R	Aire %	%	T _R	Aire %	%	T _R	Aire %	%	T _R	Aire %	%	T _R	Aire %	%
1	2-cyclopentène-1-ol, 5-(1,1,3-triméthyl-2-butényle)			Acide oxalique, ester cyclohexylmétique hydridécyclique			Glycérine			Acide oxalique, ester cyclohexylmétique hydridécyclique			Formylméthylidène de diméthylsulfoxonium		
	20.311	0.11	0.21	27.389	0.48	0.70	7.226	0.31	0.22	27.403	0.28	0.62	4.073	2.57	4.66
2	2-Cyclopentène-1-ol, 5-(1,1,3-triméthyl-2-butényle)			Acide hexadécanoïque, ester méthylique			2-cyclopentène-1-ol, 5-(1,1,3-triméthyl-2-butényle)			Hexadéc-9-énoate de méthyle			Glycérine		
	20.439	0.11	0.20	34.645	7.84	10.45	27.397	0.62	1.03	33.793	0.13	0.28	7.204	0.21	0.19
3	Acide sulfureux, ester heptylique de cyclohexylmétique			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide hexadécanoïque, ester méthylique			Hexadéc-9-énoate de méthyle			Éthanone, 1-(3,3-diméthylbicyclo[2.2.1]hept-2-yl)-, exo		
	27.384	1.36	2.63	36.218	0.31	0.43	34.681	9.41	12.34	33.941	0.22	0.51	20.334	0.12	0.21
4	Hexadéc-9-énoate de méthyle			Acide sulfureux, ester heptylique de cyclohexylmétique			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide hexadécanoïque, ester méthylique			2-cyclopentène-1-ol, 5-(1,1,3-triméthyl-2-butényle)		
	33.917	0.10	0.24	36.434	0.19	0.27	36.228	0.40	0.61	34.688	7.91	13.12	20.466	0.12	0.20
5	Acide hexadécanoïque, ester méthylique			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide sulfureux, cyclohexylmétique hexyle ester			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Hydroxytoluène butylé		
	34.701	10.85	13.79	37.622	0.73	0.99	36.453	0.25	0.39	36.231	0.19	0.40	21.059	0.11	0.22
6	Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z), ester méthylique			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène), (E,Z)			Acide sulfureux, ester heptylique de cyclohexylmétique			1-Allyl-1-but-3-ényl-1-silacyclobutane		
	37.614	0.08	0.16	39.948	31.66	24.18	37.632	0.81	1.19	36.458	0.11	0.23	27.414	1.73	3.05

7	Acide heptadécanoïque, ester méthylique			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Acide heptadécanoïque, ester méthylique			Acide hexadécanoïque, 15-méthyl-, ester méthylique			13-méthyltétradécanoate de méthyle		
	37.747	0.15	0.30	40.124	21.17	22.26	37.775	0.13	0.17	36.615	0.12	0.28	31.365	0.08	0.17
8	9,12-octadécadiénoate de n-propyle			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			9,12-octadécadiénoate de n-propyle			Ester méthylique de l'acide (Z)-10-heptadécénoïque			Hexadéc-9-énoate de méthyle		
	40.015	30.44	17.81	40.217	1.30	2.12	39.986	26.66	18.86	37.020	0.13	0.31	33.940	0.08	0.19
9	Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Stéarate de méthyle			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Décane, 5,6-bis(2,2-diméthylpropylidène)-			Acide hexadécanoïque, ester méthylique		
	40.227	23.05	17.88	40.805	3.32	4.64	40.184	22.51	19.49	37.642	0.42	0.87	34.708	10.59	13.41
10	Stéarate de méthyle			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z)			Stéarate de méthyle			Acide heptadécanoïque, ester méthylique			Acide heptadécanoïque, ester méthylique		
	40.848	4.17	7.33	40.955	0.23	0.24	40.824	3.34	5.21	37.770	0.25	0.50	37.768	0.11	0.22
11	14-méthyl-eicosanoate de méthyle			L'acide oléique			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z)			9,12-octadécadiénoate de n-propyle			9,12-octadécadiénoate de n-propyle		
	42.896	0.09	0.19	41.123	0.25	0.29	41.004	0.59	0.58	40.028	44.00	20.73	40.027	29.17	18.95
12	Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacotane, 1(22),7(16)-diépoxy			Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacotane, 1(22),7(16)-diépoxy			L'acide oléique			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylique, (E)		
	45.161	0.42	0.64	45.157	0.18	0.23	41.170	0.65	0.59	40.260	19.75	20.82	40.228	23.61	18.95
13	E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			Hexadéca-2,4-diénoate de méthyle			Tricyclo[20.8.0.0(7,16)]triacotane, 1(22),7(16)-diépoxy			Stéarate de méthyle			Stéarate de méthyle		
	45.358	2.99	4.18	45.322	1.43	1.64	45.169	0.34	0.42	40.880	5.14	10.16	40.851	3.86	6.41
14	13,16-docosadiénoate de méthyle			13,16-docosadiénoate de méthyle			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z)			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z)		
	45.651	7.04	8.26	45.573	3.49	3.62	45.356	2.58	3.12	41.021	0.45	0.66	40.981	0.20	0.26

15	Acide oxiranooctanoïque, 3-octyl-, méthyl ester			Acide oxiranooctanoïque, 3-octyl-, méthyl ester			13,16-docosadiénoate de méthyle			L'acide oléique			L'acide oléique		
	45.954	4.05	5.07	45.903	1.98	1.90	45.621	6.09	6.62	41.184	0.48	0.59	41.142	0.18	0.24
16	5,13-docosadiénoate de méthyle			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z)-, ester méthylrique			Acide oxiranooctanoïque, 3-octyl-, méthyl ester			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			21-méthyl-docosanoate de méthyle		
	46.151	4.75	5.37	46.085	3.72	2.81	45.938	3.57	3.48	41.848	0.25	0.51	42.914	0.09	0.16
17	Acide eicosanoïque, ester méthylrique			Acide eicosanoïque, ester méthylrique			Acide 9,12-octadécadiénoïque (Z,Z), ester méthylrique			Palmitate de glycidyle			Tricyclo[20.8.0.0(7.16)]triacotane, 1(22),7(16)-diépoxy		
	47.173	0.50	0.79	47.173	0.51	0.56	46.135	4.47	4.14	46.008	0.54	0.78	45.179	0.35	0.48
18	7,12-octadécadiénoate de méthyle			Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylrique)			Acide eicosanoïque, ester méthylrique			Acide 11-eicosénoïque, ester méthylrique			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol		
	48.276	0.12	0.26	49.153	0.17	0.28	47.183	0.35	0.49	46.214	0.71	1.04	45.365	2.60	3.40
19	(1R,2R,8aS)-2,5,5,8a-tétraméthyl-1-[(1E,3Z)-3-méthyl-1,3-pentadiényl]decah			6,9-acide octadécadiénoïque, ester méthylrique			7,12-octadécadiénoate de méthyle			Acide eicosanoïque, ester méthylrique			13,16-docosadiénoate de méthyle		
	48.675	0.20	0.29	49.665	0.14	0.22	48.283	0.12	0.19	47.203	1.55	2.41	45.647	6.32	7.18
20	Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylrique)			Acide 9-octadécénoïque, ester méthylrique, (E)			Acide octadécanoïque, 10-oxo-, ester méthylrique			14-méthyl-eicosanoate de méthyle			Acide oxiranooctanoïque, 3-octyl-, méthyl ester		
	49.156	0.14	0.25	49.783	0.14	0.18	48.492	0.16	0.19	49.813	0.13	0.27	45.957	3.43	4.05
21	5,11,14-eicosatriénoate de méthyle			Acétate de linoléyle			(1S*,6R*,7R*,10R*)-1,6-diméthyl-10-ethoxybicyclo[5.3.0]decan-2-one			Acétate de linoléyle			5,13-docosadiénoate de méthyle		
	50.586	1.47	3.32	50.591	3.58	6.09	48.689	0.22	0.24	50.605	2.44	6.13	46.148	4.20	4.25
22	Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylrique)			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			Acide eicosanoïque, ester méthylrique		
	50.670	1.89	3.12	50.671	4.51	5.04	49.162	0.09	0.14	50.689	2.68	4.94	47.204	0.46	0.66

23	20-méthylhénéicosanoate de méthyle			1-Hexacosanol			9,12-octadécadiénoate de n-propyle			Palmitate de glycidyle			5,13-docosadiénoate de méthyle		
	50.965	0.25	0.28	50.918	0.48	0.50	49.671	0.13	0.25	51.109	0.32	0.78	48.296	0.09	0.17
24	Palmitate de glycidyle			Palmitate de glycidyle			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester 2,3-dihydroxypropylique			20-méthylhénéicosanoate de méthyle			(IR,2R 8aS)-2,5,5,8a-tetraméthyl-1-[(1E3Z)-3-méthyl-1,3-pentadienyl]		
	51.099	0.59	0.56	51.097	0.64	0.75	49.788	0.13	0.19	51.555	0.81	2.75	48.695	0.17	0.19
25	20-méthylhénéicosanoate de méthyle			20-méthylhénéicosanoate de méthyle			Acétate de linoléyle			20-méthyl-docosanoate de méthyle			Acide octadécénoïque, ester butylique		
	51.540	0.22	0.64	51.539	0.28	0.65	50.602	3.40	6.23	52.894	0.36	0.64	48.889	0.08	0.16
26	Campestérol			Campestérol			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			3-n-butylthiophène-1,1-dioxyde			Acide hexanedioïque, ester bis(2-éthylhexylique)		
	52.888	0.49	0.49	52.846	0.51	0.36	50.683	4.54	5.51	53.175	0.20	0.37	49.171	0.28	0.52
27	bêta-Eudesmol. Dérivé TMS			bêta-Eudesmol. Dérivé TMS			Palmitate de glycidyle			Glycidyl (Z)-9-nonadécénoate			5,11,14-eicosatriénoate de méthyle		
	53.167	0.20	0.34	53.164	0.40	0.55	51.106	1.06	0.94	53.353	0.26	0.55	50.602	1.43	2.97
28	Glycidyl (Z)-9-nonadécénoate			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			20-méthylhénéicosanoate de méthyle			Palmitate de linoléyle			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle		
	53.346	0.22	0.37	53.346	0.33	0.46	51.545	0.17	0.37	53.595	1.32	0.71	50.681	1.94	2.68
29	cis-9,10-époxyoctadécénoate de dodécyle			E,Z-1,3,12-nonadécatriène			20-méthyl-docosanoate de méthyle			Palmitate de glycidyle			20-méthylhénéicosanoate de méthyle		
	53.455	0.13	0.18	53.607	0.68	0.45	52.890	0.31	0.21	53.840	0.27	0.53	50.970	0.20	0.21
30	E,Z-1,3,12-nonadécatriène			Stigmastérol			bêta-Eudesmol. Dérivé TMS			28,33-Dinorgost-5-en-24-one, 3-hydroxy-, (3.beta)			Palmitate de glycidyle		

31	53.603	0.61	0.58	53.905	0.71	0.40	53.173	0.34	0.48	53.960	0.34	0.32	51.112	0.34	0.46
	Palmitate de glycidyle			1,4 Benzenedicarboxylic acid, bis(2-ethylhexyl) ester			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, ester d'oxiranylméthyle			Acide tétracosanoïque, méthyle ester			20-méthylhéicosanoate de méthyle		
32	53.835	0.10	0.16	54.376	0.14	0.31	53.352	0.42	0.69	54.145	0.41	1.13	51.552	0.18	0.51
	Stigmasta-4,22-dièn-3.β-ol			2,6,10,15,19,23-Pentaméthyl-2,6,18,22-tétracosatetraen-10,15-diol			Acide oxiranooctanoïque, 3-octyl-, cis			Acide 1,3-benzédicarboxylique, ester de bis(2-éthylhexyle)			Z,Z-6,28-Heptatriacontadien-2-one		
33	54.035	0.19	0.23	55.522	0.47	0.73	53.465	0.20	0.21	54.384	0.31	0.39	52.517	0.60	0.36
	Acide tétracosanoïque, ester méthylrique			5,13-docosadiénoate de méthyle			Acide 9-octadécénoïque (Z)-, Ester 2,3-dihydroxypropylique			Sulfure de décyle			β-Eudesmol. Dérivé TMS		
34	54.130	0.11	0.35	55.681	0.21	0.27	53.653	0.57	0.61	54.602	0.29	0.36	53.179	0.23	0.39
	Ester bis(2-éthylhexylique) de l'acide 1,3-benzédicarboxylique			gamma-Sitostérol			Thunbergol			(9E,12E)-9,12-octadécadiénoate de méthyle			Acide 9-octadécénoïque (Z)-ester d'oxiranylméthyle		
35	54.376	0.13	0.37	55.997	3.65	2.53	53.914	2.08	0.86	55.068	3.50	1.32	53.356	0.14	0.23
	Squalène			Tetrapentacotane			Acide tétracosanoïque, ester méthylrique			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol		
36	55.520	0.27	0.76	56.540	0.24	0.34	54.145	0.12	0.26	55.700	0.35	0.54	53.729	2.49	0.92
	gamma-Sitostérol			Bétuline			Cyclohexanone - [2,2-bis(hydroxyméthyl)triméthylène cyclique] - cétal			gamma-Sitostérol			Acide tétracosanoïque, ester méthylrique		
37	56.119	1.20	1.19	56.757	1.74	0.76	54.600	0.11	0.25	56.003	1.60	1.43	54.144	0.22	0.33
	Octadécane, 3-éthyl-5-(2-éthylbutyl)			Linoléate d'isopropyle			2,6,10,15,19,23-pentaméthyl-2,6,18,22-tétracosatetraen-10,15-diol			Hexacotane			Ester bis(2-éthylhex-1) d'acide 1,3-benzédicarboxylique		
	56.528	0.23	0.22	57.488	1.20	1.11	55.526	0.31	0.60	56.544	0.53	0.45	54.388	0.37	0.89

Liste des annexes

38	Stigmasta-5,24(28)-dien-3-ol (3 bêta 24Z).			6,9,12-hexadécatriénoate de butyle			E,E,Z-1,3,12-nonadécatriène-5,14-diol			Linoléate d'isopropyle			2,6,10,15,19,23-pentaméthyl-2,6,18,22-tétracosatétraène-10,15-diol		
	56.781	0.33	0.32	57.660	0.15	0.17	55.688	0.26	0.41	57.496	0.97	1.29	55.536	0.36	0.85
39	Linoléate d'isopropyle			Stigmastane. 3-oxo			gamma-Sitostérol			N-hexadécylmalonate de diéthyle			gamma-Sitostérol		
	57.476	0.36	0.44	57.907	0.20	0.14	55.974	1.13	0.89	57.925	0.11	0.13	56.145	0.34	0.31
40	9,19-Cyclo-9 bêta-lanostane-3 bêta. 25-diol			9,10-Cyclolanost-24-en-3-ol. (3 bêta)			Linoléate d'isopropyle			9,19-Cyclolanost-24-en-3-ol (3 bêta)			Linoléate d'isopropyle		
	58.994	0.29	0.22	57.907	0.63	0.38	57.498	1.04	1.33	58.835	0.17	0.15	57.494	0.33	0.36

Tableau 2 :Composés identifiés par GC/MS (*Plantago ovata*).

<i>Plantago Ovata</i>						
Soxhlet			CO2 supercritique			
	Composés	Formule	Temps de rétention (min), T _R	Composés	Formule	Temps de rétention (min), T _R
1	L-Alanine	C ₃ H ₇ O ₂ N	1.574	Acide hexadécanoïque (acide palmitique)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	33.902
2	Coumarine	C ₉ H ₆ O ₂	24.843	Acide 9,12-octadécadiénoïque (z,z)	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	36.313
3	Acide 3-désoxy-D-mannonique	C ₆ H ₁₂ O ₆	28.54	Acide 9-octadécénoïque (acide oléique)	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	36.388
4	Lactone 3-désoxy-D-mannoïque	C ₆ H ₁₀ O ₅	29.220	Acide octadécanoïque (acide stéarique)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	36.608
5	Heptadécane,3-méthyl	C ₁₈ H ₃₈	31.006	13-Docosenamamide, (Z)-	C ₂₂ H ₄₃ ON	36.858
6	Acide hexadécanoïque, ester méthylique	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	33.357	9-octadécénamide, (z-) (oléoamide)	C ₁₈ H ₃₅ ON	39.084
7	Acide hexadécanoïque (acide palmitique)	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	33.917	Ester bis(2-éthylhexylique) d'acide hexandioic	C ₂₂ H ₄₂ O ₄	39.489
8	Palmitate d'isopropyle	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	34.717	N.I	/	40.564
9	1,19-Eicosadiène	C ₂₀ H ₃₈	35.262	N.I	/	42.375
10	Ester méthylique de l'acide 9,12-octadécadiénoïque (z,z)	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	35.693	N.I	/	42.530
11	13-Octadecenal,(z)	C ₁₈ H ₃₄ O	36.383	Acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique, ester dicylique	C ₂₈ H ₅₂ O ₄	42.715
12	Acide octadécanoïque (Acide stéarique)	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	36.608	N.I	/	42.795
13	1,1',3',1'-tercyclopentane,2'- dodécyl-	C ₂₇ H ₅₀	36.848	Acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique, ester de dinonyl	C ₂₅ H ₄₈ O ₄	42.965
14	Hexadecanal, 2-Méthyl	C ₁₇ H ₃₄ O	38.114	1-octanol,2,2-diméthyl	C ₁₀ H ₂₂ O	43.065
15	N.I	/	38.469	Acide 1,2-cyclohexanedicarboxylique, 2-METHYL PRNT-3-YL Nonyl ester	C ₂₃ H ₄₂ O ₄	43.250
16	N.I	/	38.624	Ester bis(2-éthylhexylique) d'acide 1,3-benzènedicarboxylique	C ₂₃ H ₄₂ O ₄	43.461
17	N.I		38.799	/	/	/
18	9-octadécénamide, (Z)	C ₁₈ H ₃₅ ON	39.059	/	/	/
19	N.I		40.134	/	/	/
20	Acide octadécanoïque,3-oxo-, Ester méthylique	C ₁₉ H ₃₆ O ₃	40.390	/	/	/
21	N.I		40.600	/	/	/
22	Acide hexadécanoïque, ester éthylique de 2-hydroxy-1-(hydroxyméthyle)	C ₁₉ H ₃₈ O ₄	40.790	/	/	/
23	N.I	/	42.810	/	/	/
24	N.I	/	42.971	/	/	/
25	N.I	/	43.081	/	/	/
26	N.I	/	43.261	/	/	/

27	Adide 1,3- benzènedicarboxylique, ester de bis(2-éthylhexyle)	$C_{24}H_{38}O_4$	43.451	/	/	/
28	Acide 1,2- cyclohexanedicarboxylique, 2,5- dichlorophényl nonylester	$C_{23}H_{32}O_4Cl_2$	43.546	/	/	/
29	Acide 1,2- cyclohexanedicarboxylique, ester de dinonyle	$C_{25}H_{48}O_4$	43.626	/	/	/
30	Acide 1,2- cyclohexanedicarboxylique, ester de cyclohexylméthyl nonyle	$C_{24}H_{42}O_4$	43.851	/	/	/
31	N.I	/	44.186	/	/	/
32	Gamma-Tocophérol	/	48.548	/	/	/

Annexe G

• Méthodes de contribution de groupes

Tableau 1: CONTRIBUTION DU GROUPE JOBACK.

	T_c	P_c	V_c
Non-ring increments			
—CH ₃	0.0141	-0.0012	65
—CH ₂ —	0.0189	0	56
>CH—	0.0164	0.0020	41
>C<	0.0067	0.0043	27
=CH ₂	0.0113	-0.0028	56
=CH—	0.0129	-0.0006	46
=C<	0.0117	0.0011	38
=C=	0.0026	0.0028	36
=CH	0.0027	-0.0008	46
=C—	0.0020	0.0016	37
Ring increments			
—CH ₂ —	0.0100	0.0025	48
>CH—	0.0122	0.0004	38
>C<	0.0042	0.0061	27
=CH—	0.0082	0.0011	41
=C<	0.0143	0.0008	32
Halogen increments			
—F	0.0111	-0.0057	27
—Cl	0.0105	-0.0049	58
—Br	0.0133	0.0057	71
—I	0.0068	-0.0034	97
Oxygen increments			
—OH (alcohol)	0.0741	0.0112	28
—OH (phenol)	0.0240	0.0184	-25
—O— (nonring)	0.0168	0.0015	18
—O— (ring)	0.0098	0.0048	13
>C=O (nonring)	0.0380	0.0031	62
>C=O (ring)	0.0284	0.0028	55
O=CH— (aldehyde)	0.0379	0.0030	82
—COOH (acid)	0.0791	0.0077	89
—COO— (ester)	0.0481	0.0005	82
=O (except as above)	0.0143	0.0101	36
Nitrogen increments			
—NH ₂	0.0243	0.0109	38
>NH (nonring)	0.0295	0.0077	35
>NH (ring)	0.0130	0.0114	29
>N— (nonring)	0.0169	0.0074	9
—N= (nonring)	0.0255	-0.0099	—
—N= (ring)	0.0085	0.0076	34
=NH	—	—	—
—CN	0.0496	-0.0101	91
—NO ₂	0.0437	0.0064	91
Sulfur increments			
—SH	0.0031	0.0084	63
—S— (nonring)	0.0119	0.0049	54
—S— (ring)	0.0019	0.0051	38

Tableau2: CONTRIBUTION DU GROUPE LYDERSEN

	T_c	P_c	V_c
-CH ₃ , -CH ₂ ---	0.020	0.226	55
-CH ₂ - (ring)	0.013	0.183	44.5
>CH-	0.012	0.209	51
>CH- (ring)	0.012	0.191	46
>C<	0.000	0.209	41
>C< (ring)	-0.007	0.153	31
=CH ₂ , =CH-	0.018	0.197	45
=CH- (ring)	0.011	0.153	37
>C=, =C=	0.000	0.197	36
>C= (ring)	0.011	0.153	36
≡CH, ≡C-	0.005	0.152	36
-F	0.018	0.223	18
-Cl	0.017	0.328	49
-Br	0.010	0.50	70
-I	0.012	0.83	95
-O-	0.021	0.16	20
-O- (ring)	0.014	0.12	8
-OH (alcohols)	0.082	0.06	18
-OH (phenols)	0.035	-0.02	3
>CO	0.040	0.29	60
>CO (ring)	0.033	0.2	50
-CHO	0.048	0.33	73
-CO-O-	0.047	0.47	80
-COOH	0.085	0.4	80
-NH ₂	0.031	0.094	28
>NH	0.031	0.134	37
>NH (ring)	0.024	0.09	27
>N-	0.014	0.17	42
>N- (ring)	0.007	0.13	32
>CN	0.060	0.36	80
-SH, -S-	0.015	0.27	55
-S- (ring)	0.008	0.24	45
=S	0.003	0.24	47
--NO ₂	0.005	0.42	78
>Si<	0.03	0.54	—
>B-	0.03		

Tableau 3: CONTRIBUTIONS DU GROUPE FEDORS POUR Tc

	Δ_f Values
-CH ₃	1.79
-CH ₂ -	1.34
>CH-	0.45
(except for adjacent pairs of >CH-, then, for each)	0.76
>C<	-0.22
=CH ₂	1.59
=CH-	1.40
>C=	0.89
=CH-	1.79
=C-	2.46
=C=	1.03
-CO-OH	10.72
-CO-O-OC- (anhydride)	7.95
-CO-O-	5.32
-O-OC-CO-O- (oxalate)	6.25
-CO-	5.36
-O-	1.56
-O- (aromatic)	2.68
-OH	5.63
-OH (aromatic)	9.65
-CHO	5.49
-C=N	8.49
-C=N (aromatic)	9.38
-NH ₂	4.56
-NH ₂ (aromatic)	9.20
-NH-	3.04
-NH- (aromatic)	7.64
>N-	0.89
>N- (aromatic)	4.74
-N=	4.51
-S-S-	9.83
-S-	4.91
-SH	5.36
-F	2.10
-F (aromatic)	0.45
-F (perfluoro)	0.54
-Cl	4.20
-Cl (disubstituted)	3.71
-Cl (trisubstituted)	3.17
-Br	5.58
-I	8.04
-I (aromatic)	10.77
3-membered ring	0.45
5-membered ring	2.23
6-membered ring	2.68
heteroatom in ring	0.45
substitution on carbon in a double bond (nonaromatic)	0.58
ortho substitution in a benzene ring	1.16
conjugation, per double bond	0.13

Tableau 4: CONTRIBUTION DU GROUPE AMBROSE

	T_c	P_c	V_c
Carbon atoms in alkyl groups	0.138	0.225	55.1
corrections:			
>CH— (each)	-0.043	-0.005	-8
>C< (each)	-0.120	-0.038	-17
double bonds (nonaromatic)	-0.050	-0.065	-20
triple bonds	-0.200	-0.170	-40
delta Platt number, ¹ multiply by	-0.023	-0.025	—
Aliphatic functional groups			
—O—	0.138	0.160	20
>CO	0.220	0.282	60
—CHO	0.220	0.220	55
—COOH	0.578	0.450	80
—CO—O—OC—	1.156	0.900	160
—CO—O—	0.330	0.470	80
—NO ₂	0.370	0.420	78
—NH ₂	0.208	0.095	30
—NH—	0.208	0.105	30
>N—	0.088	0.170	30
—CN	0.423	0.360	80
—S—	0.105	0.270	55
—SH	0.090	0.270	55
—SiH ₃	0.200	0.460	118
—O—Si(CH ₃) ₂	0.496	—	—
—F	0.055	0.225	14
—Cl	0.055	0.318	45
—Br	0.055	0.300	67
—I	0.055	—	89
Halogen correction in aliphatic compounds:			
F is present	0.125	—	—
F is absent, but Cl, Br, I present	0.085	—	—
Aliphatic alcohols ²	Footnote 3	Footnote 4	15
Ring compound increments (only listed when different from aliphatic values)			
—CH ₂ —	0.090	0.152	44.5
>CH in fused ring	0.090	0.182	44.5
double bond	-0.030	—	-15
—O—	0.090	—	10
—NH—	0.090	—	—
—S—	0.090	—	30
Aromatic compounds			
benzene	0.448	0.924	Footnote 5
pyridine	0.448	0.850	
C ₆ H ₄ (fused as in naphthalene)	0.220	0.515	
—F	0.060	0.193	
—Cl	0.060	0.318	
—Br	0.060	0.606	
—I	0.060	0.850	
—OH	0.188	-0.025	
corrections for non-halogenated substituents			
first	0.010	0	
each subsequent	0.030	0.020	
ortho pairs containing —OH	-0.080	-0.050	
ortho pairs with no —OH	-0.040	-0.050	
Highly fluorinated aliphatic compounds			
—CF ₂ —, —CF ₂ —, >CF—	0.200	0.550	
—CF ₂ —, >CF— (ring)	0.140	0.420	
>CF— (in fused ring)	0.030	—	
—H (monosubstitution)	-0.030	-0.350	
double bond (scoring)	-0.130	-0.300	
double bond (ring)	-0.030	—	
(other increments as in nonfluorinated compounds).			

Annexe H**Exemples de sommation de contributions de groupe (Joback)****Exemples**

CH ₃ NCHF									
CH ₃ -		-N= (nonring)		-CH=		-F			
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	1	23.58	1	74.60	1	24.96	1	-0.03	123.11
T _c	1	0.0141	1	0.0255	1	0.0129	1	0.0111	0.0636
P _c	1	-0.0012	1	-0.0099	1	-0.0006	1	-0.0057	-0.0174
V _c	1	65	1	-----	1	46	1	27	...

F-CH ₂ CH-(OH) ₂									
-CH ₂ -		-CH<		-OH		-F			
property	No of groups	Group value	Σ						
T _b	1	22.88	1	21.74	2	92.88	1	-0.03	230.35
T _c	1	0.0189	1	0.0164	2	0.0741	1	0.0111	0.1946
P _c	1	0	1	0.0020	2	0.0112	1	-0.0057	0.0187
V _c	1	56	1	41	2	28	1	27	180

CHO-CH ₂ CH ₂ CH=CHOH									
-CH ₂ -		-CH=		-OH		CHO			
property	No of groups	Group value	Σ						
T _b	2	22.88	2	24.96	1	92.88	1	72.24	260.8
T _c	2	0.0189	2	0.0129	1	0.0741	1	0.0379	0.1756
P _c	2	0	2	-0.0006	1	0.0112	1	0.0030	0.013
V _c	2	56	2	46	1	28	1	82	314

OH-CH ₂ -COOH							
-CH ₂ -		-COOH		-OH			
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	1	22.88	1	169.09	1	92.88	284.85
T _c	1	0.0189	1	0.0791	1	0.0741	0.1721
P _c	1	0	1	0.0077	1	0.0112	0.0189
V _c	1	56	1	89	1	28	173

CO=CH-NH-NH-CH ₂ CH ₃													
-CH ₃		-CH ₂ -		=CH-		-NH		=C=		=O			
prop erty	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of group s	Group value	No of group s	Group value	No of group s	Group value	
T _b	1	23.58	1	22.88	1	24.96	2	50.17	1	26.15	1	-10.5	187.41
T _c	1	0.0141	1	0.0189	1	0.0129	2	0.0295	1	0.0026	1	0.0143	0.1218
P _c	1	-0.0012	1	0	1	-0.0006	2	0.0077	1	0.0028	1	0.0101	0.0265
V _c	1	65	1	56	1	46	2	35	1	36	1	36	309

CHO-CH ₂ -CH ₂ -CN							
-CH ₂ -		-CHO		CN			
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	2	22.88	1	72.24	1	125.66	243.66
T _c	2	0.0189	1	0.0379	1	0.0496	0.1253
P _c	2	0	1	0.0030	1	-0.0101	- 0.0071
V _c	2	56	1	82	1	91	285

F-N=O							
-F		=N-		=O			
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	1	-0.03	1	74.60	1	-10.5	64.07
T _c	1	0.0111	1	0.0255	1	0.0143	0.0509
P _c	1	-0.0057	1	-0.0099	1	0.0101	- 0.0055
V _c	1	27	1	-----	1	36	...

NF ₂ -OF							
-F		-O-		-N<			
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	3	-0.03	1	24.42	1	11.74	36.07
T _c	3	0.0111	1	0.0168	1	0.0169	0.067
P _c	3	-0.0057	1	0.0015	1	0.0074	-0.0082
V _c	3	27	1	18	1	9	108

CHCOF									
CH≡		-C≡		-O-		-F			
property	No of groups	Group value	Σ						
T _b	1	9.20	1	27.38	1	22.42	1	-0.03	58.97
T _c	1	0.0027	1	0.0020	1	0.0168	1	0.0111	0.0326
P _c	1	-0.0008	1	0.0016	1	0.0015	1	-0.0057	-0.0034
V _c	1	46	1	37	1	18	1	27	128

CF ₃ -O-NF-CF ₃									
>C<		-F		-O-		-N<			
property	No of groups	Group value	Σ						
T _b	2	18.25	7	-0.03	1	22.42	1	11.74	
T _c	2	0.0067	7	0.0111	1	0.0168	1	0.0169	
P _c	2	0.0043	7	-0.0057	1	0.0015	1	0.0074	
V _c	2	27	7	27	1	18	1	9	

CH ₃ NFCH ₂ F										
		-CH ₃		-CH ₂ -		-F		-N<		
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ	
T _b	1	23.58	1	22.88	2	-0.03	1	11.74		
T _c	1	0.0141	1	0.0189	2	0.0111	1	0.0169		
P _c	1	-0.0012	1	0	2	-0.0057	1	0.0074		
V _c	1	65	1	56	2	27	1	9		

CH ₂ =O					
CH ₂ =			=O		
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	1	18.18	1	-10.5	
T _c	1	0.0113	1	0.0143	
P _c	1	-0.0028	1	0.0101	
V _c	1	56	1	36	

F-CCH								
		CH≡		-C≡		-F		
Property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ	
T _b	1	9.20	1	27.38	1	-0.03		
T _c	1	0.0027	1	0.0020	1	0.0111		
P _c	1	-0.0008	1	0.0016	1	-0.0057		
V _c	1	46	1	37	1	27		

F-O-F						
		-O-		-F		
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ	
T _b	1	22.42	2	-0.03		
T _c	1	0.0168	2	0.0111		
P _c	1	0.0015	2	-0.0057		
V _c	1	18	2	27		

NHF ₂					
-NH<			-F		
property	No of groups	Group value	No of groups	Group value	Σ
T _b	1	50.17	2	-0.03	
T _c	1	0.0295	2	0.0111	
P _c	1	0.0077	2	-0.0057	
V _c	1	35	2	27	

FNCO										
		=C=		=O		-N=		-F		
property	No of groups	Group value	Σ							

T_b	1	26.15	1	-10.5	1	74.60	2	-0.03	
T_c	1	0.0026	1	0.0143	1	0.0255	2	0.0111	
P_c	1	0.0028	1	0.0101	1	-0.0099	2	-0.0057	
V_c	1	36	1	36	1	-----	2	27	

CH ₃ CF ₂ CH ₃								Σ
property	-CH ₃		>C<		-F		Σ	
	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value		
T_b	2	23.58	1	18.25	2	-0.03		
T_c	2	0.0141	1	0.0067	2	0.0111		
P_c	2	-0.0012	1	0.0043	2	-0.0057		
V_c	2	65	1	27	2	27		

CF ₂ CHSCH ₃											Σ
property	-CH ₃		=C<		=CH-		-F		-S-		
	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	
T_b	1	23.58	1	24.14	1	24.96	2	-0.03	1		
T_c	1	0.0141	1	0.0117	1	0.0129	2	0.0111	1		
P_c	1	-0.0012	1	0.0011	1	-0.0006	2	-0.0057	1		
V_c	1	65	1	38	1	46	2	27	1		

CH ₂ NCF ₃										Σ
property	>C<		CH ₂ =		-N=		-F		Σ	
	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value	No of groups	Group value		
T_b	1	18.25	1	18.18	1	74.60	3	-0.03		
T_c	1	0.0067	1	0.0113	1	0.0255	3	0.0111		
P_c	1	0.0043	1	-0.0028	1	-0.0099	3	-0.0057		
V_c	1	27	1	56	1	-----	3	27		

CHF ₂ OCClF ₂											Σ
property	>CH-		>C<		-O-		-F		-Cl		
	No of groups	Group value									
T_b	1	21.74	1	18.25	1	22.42	4	-0.03	1	38.13	
T_c	1	0.0164	1	0.0067	1	0.0168	4	0.0111	1	0.0105	
P_c	1	0.0020	1	0.0043	1	0.0015	4	-0.0057	1	-0.0049	
V_c	1	41	1	27	1	18	4	27	1	58	

Annexe I**Tableau 1** : La solubilité du Naphtène dans CO₂ et Ethane supercritique.

Pression (bar)	Naphtène (Solubilité Y)					
	CO ₂ (Solvant)			Ethane(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0941	323 °C Kij=0.0925	333 °C Kij=0.0913	313 °C Kij=0.0859	323 °C Kij=0.0861	333 °C Kij=0.0862
100	0.8199725	0.0048576	0.0025768	0.0254819	0.0227834	0.0181207
110	0.8181548	0.8434485	0.0047071	0.0301035	0.0285547	0.0246510
120	0.8163267	0.8417471	0.0103865	0.0341957	0.0346848	0.0317932
130	0.8145015	0.8400666	0.8625111	0.0391879	0.0414428	0.0408184
140	0.8126718	0.8384585	0.8610394	0.0445218	0.0500879	0.0541448
150	0.8109348	0.8368369	0.8595413	0.0503924	0.0643668	0.8548715
160	0.8091052	0.8352825	0.8581374	0.0580599	0.8283593	0.8533657
170	0.8074279	0.8336909	0.8567045	0.0718733	0.8267747	0.8518670
180	0.8057496	0.8321759	0.8553773	0.7957068	0.8250816	0.8502946
190	0.8040839	0.8306696	0.8540342	0.7938027	0.8234822	0.8489428
200	0.8024329	0.8291234	0.8526758	0.7919800	0.8218133	0.8475334
210	0.8008008	0.8276771	0.8513867	0.7900597	0.8202504	0.8461236
220	0.7990998	0.8262439	0.8501110	0.7884453	0.8186738	0.8446995
230	0.7975264	0.8248239	0.8488549	0.7865723	0.8170692	0.8434324
240	0.7959671	0.8234268	0.8475564	0.7848448	0.8156437	0.8420302
250	0.7944260	0.8220446	0.8463613	0.7830889	0.8140746	0.8407958
260	0.7928967	0.8206851	0.8451774	0.7815251	0.8126626	0.8395507
270	0.7913883	0.8192641	0.8440147	0.7797881	0.8110894	0.8382038
280	0.7899010	0.8179575	0.8428696	0.7779880	0.8097306	0.8370212
290	0.7884283	0.8166686	0.8417420	0.7764859	0.8083569	0.8358383
300	0.7869762	0.8153962	0.8406346	0.7749332	0.8068010	0.8346683
310	0.7855410	0.8141419	0.8395469	0.7732013	0.8055012	0.8333732
320	0.7841240	0.8129030	0.8384798	0.7717031	0.8041969	0.8322732
330	0.7827255	0.8116826	0.8374292	0.7701914	0.8028947	0.8311787
340	0.7813443	0.8104845	0.8363993	0.7684596	0.8016022	0.8300974
350	0.7799794	0.8092975	0.8353882	0.7670215	0.8003247	0.8290284
360	0.7786322	0.8081328	0.8343986	0.7655743	0.7989023	0.8279787
370	0.7773071	0.8069843	0.8333556	0.7641311	0.7976899	0.8269426
380	0.7758781	0.8058527	0.8324073	0.7626944	0.7964823	0.8259254
390	0.7745893	0.8047399	0.8314735	0.7612680	0.7952902	0.8247869
400	0.7733152	0.8036448	0.8305633	0.7596536	0.7941096	0.8238265

Tableau 2 La solubilité du Naphtène dans Ethylène et Ethyne supercritique.

Pression (bar)	Naphtène (Solubilité Y)					
	Ethylène(Solvant)			Ethyne(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0154	323 °C Kij=0.0149	333 °C Kij=0.0146	313 °C Kij=0.0854	323 °C Kij=0.0852	333 °C Kij=0.0851
100	0.8207586	0.0087260	0.0062638	0.8176768	0.8434584	0.0152661
110	0.8189011	0.0213540	0.0107901	0.8157847	0.8416473	0.8642890
120	0.8171308	0.8422071	0.0231846	0.8138760	0.8400069	0.8626746
130	0.8153514	0.8405721	0.8627439	0.8120651	0.8383172	0.8611923
140	0.8135815	0.8389006	0.8612840	0.8101862	0.8366317	0.8597032
150	0.8118095	0.8373799	0.8598145	0.8084038	0.8350163	0.8582233
160	0.8101278	0.8357961	0.8583771	0.8065188	0.8333614	0.8567449
170	0.8084511	0.8342777	0.8570399	0.8047979	0.8317963	0.8553448
180	0.8067331	0.8327148	0.8556259	0.8030797	0.8302391	0.8538919

190	0.8051084	0.8312492	0.8543230	0.8013712	0.8286291	0.8525481
200	0.8034996	0.8297915	0.8530216	0.7996833	0.8271309	0.8512064
210	0.8019035	0.8283489	0.8517344	0.7978845	0.8256471	0.8498813
220	0.8003306	0.8269311	0.8504095	0.7962598	0.8241754	0.8485059
230	0.7986779	0.8254720	0.8491850	0.7946443	0.8227265	0.8472485
240	0.7971629	0.8241084	0.8479724	0.7930471	0.8212950	0.8460019
250	0.7956618	0.8227608	0.8467821	0.7914622	0.8197871	0.8447726
260	0.7941781	0.8214290	0.8456064	0.7898977	0.8184152	0.8435641
270	0.7927083	0.8201163	0.8444524	0.7883528	0.8170591	0.8423736
280	0.7912574	0.8188229	0.8433163	0.7868233	0.8157179	0.8412014
290	0.7898268	0.8175476	0.8422041	0.7853131	0.8143981	0.8400540
300	0.7884097	0.8162930	0.8411092	0.7838222	0.8130940	0.8389235
310	0.7870126	0.8150562	0.8400371	0.7823481	0.8118095	0.8377219
320	0.7856335	0.8138406	0.8389187	0.7808958	0.8105412	0.8366440
330	0.7842758	0.8126402	0.8378968	0.7794572	0.8092948	0.8355862
340	0.7829323	0.8114609	0.8368869	0.7779010	0.8080661	0.8345433
350	0.7816079	0.8102242	0.8358961	0.7765096	0.8068528	0.8335186
360	0.7802969	0.8090911	0.8349229	0.7751328	0.8056615	0.8325145
370	0.7790068	0.8079691	0.8339698	0.7737748	0.8044864	0.8315264
380	0.7777343	0.8068693	0.8330319	0.7724349	0.8033299	0.8305562
390	0.7764776	0.8057831	0.8321141	0.7711077	0.8021886	0.8296051
400	0.7751443	0.8047150	0.8312114	0.7698004	0.8010705	0.8286719

Tableau 3 La solubilité du Naphtène dans Propane et Propène.

Pression (bar)	Naphtène (Solubilité Y)					
	Propane(Solvant)			Propène(Solvant)		
	380 °C Kij=0.0456	480 °C Kij=0.0530	510 °C Kij=0.0560	380 °C Kij=0.0254	480 °C Kij=0.031	510 °C Kij=0.033
100	0.9385371	pas de solubilité	pas de solubilité	0.9391038	pas de solubilité	pas de solubilité
110	0.9376154			0.9381945		
120	0.9367265			0.9373245		
130	0.9358732			0.9364858		
140	0.9350531			0.9356439		
150	0.9342641			0.9348761		
160	0.9334575			0.9341395		
170	0.9327438			0.9334336		
180	0.9320577			0.9327587		
190	0.9314031			0.9321112		
200	0.9307779			0.9314970		
210	0.9301816			0.9309105		
220	0.9296168			0.9303527		
230	0.9290773			0.9298260		
240	0.9285680			0.9293263		
250	0.9280890			0.9288514		
260	0.9276349			0.9284071		
270	0.9272079			0.9279888		
280	0.9268103			0.9275972		
290	0.9264402			0.9272322		
300	0.9260936			0.9268950		
310	0.9257720			0.9265776		
320	0.9254810			0.9262897		
330	0.9252105			0.9260256		
340	0.9249656			0.9257842		
350	0.9247475			0.9255700		

360	0.9245528			0.9253796		
370	0.9243823			0.9252113		
380	0.9242346			0.9250671		
390	0.9241113			0.9249433		
400	0.9240099			0.9248440		

Tableau 4 : La solubilité du Naphtène dans CCl₄, CCl₂O et C₂Cl₄ supercritique.

Naphtène (Solubilité Y)			
CCl ₄ (Solvant)	CCl ₂ O(Solvant)		C ₂ Cl ₄ (Solvant)
600 °C Kij=0.185	560 °C Kij=0.143	600 °C Kij=0.210	625 °C Kij=0.367
pas de solubilité	pas de solubilité	pas de solubilité	pas de solubilité

Tableau 5 : La solubilité de l'Anthracène dans CO₂ et Ethane supercritique.

Pression (bar)	Anthracen (Solubilité Y)					
	CO ₂ (Solvant)			Ethane(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0944	323 °C Kij=0.0921	333 °C Kij=0.0902	313 °C Kij=0.0879	323 °C Kij=0.0885	333 °C Kij=0.0892
100	0.0018102	0.0003598	0.0002042	0.0026023	0.0022328	0.0017755
110	0.0028977	0.0009124	0.0004170	0.0030393	0.0027826	0.0024065
120	0.0038869	0.0019708	0.0008060	0.0034513	0.0033072	0.0030286
130	0.0050984	0.0030072	0.0015584	0.0038408	0.0038079	0.0036349
140	0.0060362	0.0040535	0.0024395	0.0042098	0.0042860	0.0042225
150	0.0069211	0.0054245	0.0034399	0.0045597	0.0047427	0.0047901
160	0.0077570	0.0065491	0.0045030	0.0048920	0.0051786	0.0053371
170	0.0085474	0.0076492	0.0059987	0.0052074	0.0055950	0.0058638
180	0.0092950	0.0087200	0.0072617	0.0055071	0.0059925	0.0066000
190	0.0100016	0.0097584	0.0085390	0.0057918	0.0065919	0.0071237
200	0.0110883	0.0112559	0.0098177	0.0060623	0.0069802	0.0076292
210	0.0117742	0.0123273	0.0116605	0.0063193	0.0073522	0.0081167
220	0.0124248	0.0133685	0.0130748	0.0067816	0.0077085	0.0085864
230	0.0130405	0.0143782	0.0144864	0.0070292	0.0080493	0.0090387
240	0.0136229	0.0153547	0.0165180	0.0072647	0.0083755	0.0094739
250	0.0141727	0.0168843	0.0180596	0.0074888	0.0086872	0.0098922
260	0.0146908	0.0178778	0.0195990	0.0077016	0.0089853	0.0102942
270	0.0151780	0.0188389	0.0218918	0.0079037	0.0092697	0.0106801
280	0.0156351	0.0197659	0.0235775	0.0080956	0.0095412	0.0110503
290	0.0160633	0.0206572	0.0260850	0.0082776	0.0098001	0.0114051
300	0.0164637	0.0221804	0.0287278	0.0084501	0.0100468	0.0117453
310	0.0168367	0.0230723	0.0307830	0.0086134	0.0102817	0.0120707
320	0.0177288	0.0239271	0.0347430	0.0087680	0.0105053	0.0123821
330	0.0180752	0.0247430	0.0392761	0.0089139	0.0107178	0.0126795
340	0.0183957	0.0255205	0.5213780	0.0090518	0.0109196	0.0129638
350	0.0186908	0.0269895	0.5159705	0.0091817	0.0111112	0.0132349
360	0.0189615	0.0277452	0.5105494	0.0093042	0.0112929	0.0134934
370	0.0192092	0.0284589	0.5051376	0.0094193	0.0114650	0.0137398
380	0.0194344	0.0291303	0.4995706	0.0095274	0.0116276	0.0139742
390	0.0196374	0.0297580	0.4942292	0.0096288	0.0117813	0.0145461
400	0.0198199	0.0311017	0.4888119	0.0097237	0.0119265	0.0147701

Tableau 6 : La solubilité de l'Anthracène dans Ethylène et Ethyne supercritique.

Pression (bar)	Anthracen (Solubilité Y)					
	Ethylène (Solvant)			Ethyne(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0161	323 °C Kij=0.0158	333 °C Kij=0.0157	313 °C Kij=0.0797	323 °C Kij=0.0799	333 °C Kij=0.0804
100	0.0011807	0.0006815	0.0005288	0.0052942	0.0024443	0.0008393
110	0.0020186	0.0013223	0.0009148	0.0066587	0.0038136	0.0018793
120	0.0030343	0.0021334	0.0015989	0.0079535	0.0055228	0.0030745
130	0.0041948	0.0031357	0.0024214	0.0091884	0.0069903	0.0043683
140	0.0058856	0.0043053	0.0034360	0.0108022	0.0084305	0.0061112
150	0.0075043	0.0060237	0.0046288	0.0120314	0.0098392	0.0076405
160	0.0092755	0.0077163	0.0064046	0.0132176	0.0117545	0.0091851
170	0.0118671	0.0096011	0.0081735	0.0143613	0.0132367	0.0112292
180	0.0148177	0.0123993	0.0106534	0.0154626	0.0146934	0.0129382
190	0.0177166	0.0156924	0.0131859	0.0165212	0.0166778	0.0146557
200	0.0219043	0.0197583	0.0168364	0.0181497	0.0182007	0.0169853
210	0.0290963	0.0258841	0.0215192	0.0192079	0.0197000	0.0188725
220	0.5095298	0.5538290	0.0312408	0.0202249	0.0211726	0.0207702
230	0.5034316	0.5480223	0.5875744	0.0212015	0.0233434	0.0234825
240	0.4976183	0.5421463	0.5821248	0.0221349	0.0248830	0.0263108
250	0.4916951	0.5363973	0.5764140	0.0236807	0.0270932	0.0286333
260	0.4855897	0.5304629	0.5709532	0.0245955	0.0286943	0.0319082
270	0.4797305	0.5250691	0.5654434	0.0254671	0.0302662	0.0355229
280	0.4741512	0.5193935	0.5599414	0.0262952	0.0326426	0.0406201
290	0.4682752	0.5136935	0.5544227	0.0270793	0.0342702	0.5423469
300	0.4623311	0.5082761	0.5491490	0.0278195	0.0367579	0.5364593
310	0.4568172	0.5025901	0.5436625	0.0292192	0.0393024	0.5305724
320	0.4512719	0.4972483	0.5384591	0.0299154	0.0419332	0.5245742
330	0.4453849	0.4919072	0.5332628	0.0305664	0.0446806	0.5186445
340	0.4399368	0.4865867	0.5278329	0.0311711	0.0475752	0.5129915
350	0.4344932	0.4810271	0.5227478	0.0317312	0.0516451	0.5072221
360	0.4290720	0.4758088	0.5176782	0.0322478	0.4527346	0.5013661
370	0.4236749	0.4706167	0.5126364	0.0327207	0.4467737	0.4959104
380	0.4183132	0.4654553	0.5076228	0.0331511	0.4407195	0.4899971
390	0.4125918	0.4603233	0.5026449	0.0335396	0.4343757	0.4844966
400	0.4073188	0.4552273	0.4977018	0.0338891	0.4282531	0.4789518

Tableau 7 : La solubilité de l'Anthracène dans Propane et Propène supercritique.

Pression (bar)	Anthracen (Solubilité Y)					
	Propane(Solvant)			Propène(Solvant)		
	380 °C Kij=0.050	480 °C Kij=0.062	510 °C Kij=0.067	380 °C Kij=0.028	480 °C Kij=0.037	510 °C Kij=0.0413

100	0.7887959	0.0323238	0.0425947	0.7948664	0.0293531	0.0406774
110	0.7828109	0.0481308	0.0559744	0.7892467	0.0453099	0.0540725
120	0.7766777	0.9204985	0.9455960	0.7836500	0.9211375	0.9458991
130	0.7707864	0.9167655	0.9424175	0.7780939	0.9174829	0.9427407
140	0.7649052	0.9130790	0.9392710	0.7725880	0.9138541	0.9396502
150	0.7590553	0.9094621	0.9362192	0.7671286	0.9103244	0.9366228
160	0.7532327	0.9058554	0.9332043	0.7617152	0.9068227	0.9336553
170	0.7474501	0.9023973	0.9302911	0.7563487	0.9033919	0.9307619
180	0.7417009	0.8989550	0.9273757	0.7509020	0.8999797	0.9279047
190	0.7357696	0.8954942	0.9245847	0.7456383	0.8966632	0.9251381
200	0.7301044	0.8921712	0.9218338	0.7404150	0.8933923	0.9224229
210	0.7244754	0.8888845	0.9191343	0.7352392	0.8901702	0.9197607
220	0.7188721	0.8856440	0.9164876	0.7301042	0.8869959	0.9171559
230	0.7133052	0.8824464	0.9138447	0.7250137	0.8838674	0.9145684
240	0.7077709	0.8792927	0.9113178	0.7199641	0.8807376	0.9120750
250	0.7022687	0.8761848	0.9088370	0.7149591	0.8777168	0.9096336
260	0.6968029	0.8731221	0.9064018	0.7099973	0.8747370	0.9072402
270	0.6913647	0.8700281	0.9040154	0.7050753	0.8718008	0.9048946
280	0.6859617	0.8670631	0.9016780	0.7001939	0.8689098	0.9025970
290	0.6805915	0.8641384	0.8993853	0.6953540	0.8660604	0.9003483
300	0.6752498	0.8612556	0.8971398	0.6905536	0.8632526	0.8981434
310	0.6699398	0.8584110	0.8949382	0.6857951	0.8604873	0.8959853
320	0.6646613	0.8556086	0.8927823	0.6810767	0.8577623	0.8938695
330	0.6594143	0.8528462	0.8906704	0.6763954	0.8550775	0.8917994
340	0.6541945	0.8501200	0.8886013	0.6717536	0.8524329	0.8897713
350	0.6490070	0.8474324	0.8865755	0.6671478	0.8498264	0.8877870
360	0.6438457	0.8447847	0.8845876	0.6625805	0.8472579	0.8858423
370	0.6387140	0.8421711	0.8826419	0.6580521	0.8447273	0.8839372
380	0.6336155	0.8395946	0.8807397	0.6535575	0.8422325	0.8820738
390	0.6285375	0.8370567	0.8787949	0.6491023	0.8397729	0.8802477
400	0.6238191	0.8345506	0.8769708	0.6446794	0.8373517	0.8784589

Tableau 8 :La solubilité de l'Anthracène dans CCl₄, COCCl₂ et C₂Cl₄ supercritique.

Pression (bar)	Anthracen (Solubilité Y)			
	CCl ₄ (Solvant)	COCCl ₂ (Solvant)	C ₂ Cl ₄ (Solvant)	
	600 °C Kij=0.265	560 °C Kij=0.203	600 °C Kij=0.302	625 °C Kij=0.532
100	pas de solubilité	0.9915687	pas de solubilité	0.0245860
110		0.9890063		0.0222361
120		0.9865301		0.0203986
130		0.9841421		0.0186280
140		0.9818377		0.0174454
150		0.9796413		0.0164387
160		0.9775032		0.0155691
170		0.9754444		0.0148085
180		0.9734620		0.0141368
190		0.9715516		0.0135385
200		0.9697151		0.0130015
210		0.9679487		0.0125166
220		0.9662499		0.0120762
230		0.9646212		0.0116743
240		0.9630557		0.0113058
250		0.9615536		0.0109668
260		0.9601161		0.0106536

270		0.9587396		0.0103634
280		0.9574233		0.0100938
290		0.9561645		0.0098425
300		0.9549631		0.0096078
310		0.9538199		0.0093881
320		0.9527294		0.0091819
330		0.9516943		0.0089881
340		0.9507123		0.0088056
350		0.9497833		0.0086335
360		0.9489034		0.0084709
370		0.9480739		0.0081724
380		0.9472933		0.0080327
390		0.9465616		0.0079001
400		0.9458748		0.0077740

Tableau 9 : La solubilité de **Styrène** dans **Ethylène** et **Ethyne** supercritique.

Pression (bar)	Styrène (Solubilité Y)					
	Ethylène(Solvant)			Ethyne(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0121	323 °C Kij=0.0118	333 °C Kij=0.0115	313 °C Kij=0.0656	323 °C Kij=0.0655	333 °C Kij=0.0655
100	0.9375382	0.9512935	0.9634283	0.9373088	0.9511570	0.9633587
110	0.9380516	0.9519194	0.9641737	0.9378173	0.9517911	0.9641024
120	0.9385898	0.9525866	0.9649560	0.9383584	0.9524603	0.9648932
130	0.9391427	0.9532897	0.9657820	0.9389355	0.9531636	0.9657202
140	0.9397586	0.9540085	0.9666449	0.9395449	0.9539031	0.9665875
150	0.9403983	0.9547877	0.9675378	0.9401590	0.9546583	0.9674875
160	0.9410673	0.9555915	0.9684770	0.9408368	0.9554719	0.9684160
170	0.9417701	0.9564321	0.9694495	0.9415434	0.9563145	0.9693952
180	0.9424997	0.9573041	0.9704571	0.9422821	0.9571925	0.9704062
190	0.9432597	0.9582065	0.9715000	0.9430476	0.9581003	0.9714524
200	0.9440534	0.9591429	0.9725794	0.9438484	0.9590416	0.9725350
210	0.9448724	0.9601088	0.9736875	0.9446738	0.9600126	0.9736500
220	0.9457203	0.9611084	0.9748334	0.9455268	0.9610159	0.9747987
230	0.9466012	0.9621388	0.9760139	0.9464152	0.9620509	0.9759806
240	0.9475071	0.9631984	0.9772242	0.9473289	0.9631148	0.9771948
250	0.9484412	0.9642900	0.9784667	0.9482681	0.9642136	0.9784397
260	0.9494063	0.9653997	0.9797376	0.9492373	0.9653373	0.9797194
270	0.9503815	0.9665514	0.9810497	0.9502350	0.9664928	0.9810298
280	0.9514007	0.9677331	0.9823896	0.9512565	0.9676763	0.9823726
290	0.9524480	0.9689417	0.9837602	0.9523088	0.9688888	0.9837472
300	0.9535201	0.9701802	0.9851609	0.9533892	0.9701301	0.9851533
310	0.9546209	0.9714470	0.9865942	0.9544912	0.9713991	0.9865842
320	0.9557434	0.9727400	0.9880574	0.9556226	0.9726968	0.9880490
330	0.9568939	0.9740642	0.9895508	0.9567770	0.9740232	0.9895418
340	0.9580706	0.9754128	0.9910707	0.9579592	0.9753760	0.9910658
350	0.9592720	0.9767883	0.9926229	0.9591658	0.9767603	0.9926178
360	0.9604983	0.9781948	0.9942001	0.9603959	0.9781662	0.9942002
370	0.9617494	0.9796233	0.9958093	0.9616544	0.9796013	0.9958103
380	0.9630277	0.9810822	0.9974492	0.9629366	0.9810610	0.9974489
390	0.9643248	0.9825673	0.9991156	0.9642426	0.9825470	0.9991139
400	0.9656487	0.9840749		0.9655744	0.9840600	

Tableau 10 : La solubilité de **Styrène** dans **Propane** et **Propène** supercritique.

Styrène (Solubilité Y)	
Propane(Solvant)	Propène(Solvant)
380 °C Kij=0.059	380 °C Kij=0.028
pas de solubilité	pas de solubilité

Tableau 11 : La solubilité de **Styrène** dans **CO2** et **Ethane** supercritique.

Pression (bar)	Styrène (Solubilité Y)					
	CO2(Solvant)			Ethane(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0959	323 °C Kij=0.0935	333 °C Kij=0.0916	313 °C Kij=0.1107	323 °C Kij=0.1106	333 °C Kij=0.1105
100	0.9373053	0.9511721	0.9633705	0.9361725	0.9505190	0.9630138
110	0.9378179	0.9518015	0.9641113	0.9367231	0.9511467	0.9637721
120	0.9383613	0.9524713	0.9648989	0.9372367	0.9518540	0.9645819
130	0.9389162	0.9531583	0.9657307	0.9378659	0.9525802	0.9654126
140	0.9395300	0.9539029	0.9665838	0.9385101	0.9533104	0.9663029
150	0.9401765	0.9546828	0.9674922	0.9391844	0.9541183	0.9672225
160	0.9408486	0.9554892	0.9684326	0.9398842	0.9549544	0.9681765
170	0.9415542	0.9563306	0.9694068	0.9405623	0.9558206	0.9691503
180	0.9422910	0.9572074	0.9704199	0.9413423	0.9567185	0.9701849
190	0.9430562	0.9581130	0.9714625	0.9421470	0.9576489	0.9712514
200	0.9438522	0.9590530	0.9725423	0.9429770	0.9585752	0.9723472
210	0.9446761	0.9600242	0.9736578	0.9438335	0.9595809	0.9734783
220	0.9455308	0.9610268	0.9747964	0.9447205	0.9606143	0.9746432
230	0.9464148	0.9620603	0.9759805	0.9456361	0.9616731	0.9758375
240	0.9473283	0.9631253	0.9771954	0.9465773	0.9627627	0.9770673
250	0.9482692	0.9642091	0.9784406	0.9475466	0.9638814	0.9783105
260	0.9492387	0.9653360	0.9797212	0.9485446	0.9650306	0.9796085
270	0.9502343	0.9664900	0.9810328	0.9495276	0.9662060	0.9809366
280	0.9512559	0.9676741	0.9823771	0.9505878	0.9674094	0.9822926
290	0.9523078	0.9688873	0.9837491	0.9516761	0.9686434	0.9836813
300	0.9533858	0.9701318	0.9851510	0.9527875	0.9699076	0.9850950
310	0.9544890	0.9714020	0.9865847	0.9539266	0.9711968	0.9865421
320	0.9556190	0.9726977	0.9880486	0.9550861	0.9725125	0.9880146
330	0.9567589	0.9740246	0.9895444	0.9562738	0.9738353	0.9895172
340	0.9579424	0.9753777	0.9910668	0.9574848	0.9752113	0.9910481
350	0.9591486	0.9767575	0.9926187	0.9587239	0.9766119	0.9926047
360	0.9603852	0.9781671	0.9942030	0.9599825	0.9780388	0.9941920
370	0.9616423	0.9796010	0.9958103	0.9612678	0.9794885	0.9958063
380	0.9629263	0.9810610	0.9974482	0.9625773	0.9809675	0.9974464
390	0.9642335	0.9825502	0.9991156	0.9639064	0.9824686	0.9991164
400	0.9655640	0.9840586		0.9652637	0.9839928	

Tableau 12 : La solubilité de **Triphenylmethane** dans **Ethylène** et **Ethyne** supercritique.

Pression (bar)	Triphenylmethane (Solubilité Y)					
	Ethylène(Solvant)			Ethyne(Solvant)		
	313 °C Kij=0.0288	323 °C Kij=0.0286	333 °C Kij=0.0285	313 °C Kij=0.0878	323 °C Kij=0.0879	333 °C Kij=0.0881
100	0.0004935	0.0002829	0.0002015	0.0023614	0.0012873	0.0004813
110	0.0008752	0.0005511	0.0003889	0.0028986	0.0019319	0.0009228
120	0.0015322	0.0009188	0.0006695	0.0033869	0.0025546	0.0016271
130	0.0021891	0.0015597	0.0011471	0.0038309	0.0031454	0.0022652
140	0.0029241	0.0022153	0.0016996	0.0042342	0.0037006	0.0029075
150	0.0037213	0.0029650	0.0023660	0.0046002	0.0042189	0.0035373
160	0.0048812	0.0037941	0.0031362	0.0049313	0.0047004	0.0041453
170	0.0058954	0.0050112	0.0039984	0.0054919	0.0054220	0.0047259
180	0.0069595	0.0061083	0.0052836	0.0057845	0.0058738	0.0055787
190	0.0080618	0.0072800	0.0064604	0.0060474	0.0062906	0.0061549
200	0.0091913	0.0085142	0.0077350	0.0062826	0.0066736	0.0066985
210	0.0109410	0.0103483	0.0090964	0.0064915	0.0070242	0.0072090
220	0.0122516	0.0118577	0.0111848	0.0066764	0.0073433	0.0076854
230	0.0135745	0.0134237	0.0129238	0.0068383	0.0076324	0.0081281
240	0.0155632	0.0157683	0.0154882	0.0069791	0.0078931	0.0085375
250	0.0170230	0.0176181	0.0183555	0.0071002	0.0081268	0.0089142
260	0.0184710	0.0203400	0.0209368	0.0072028	0.0083348	0.0092594
270	0.0206535	0.0232710	0.0255593	0.0072886	0.0085186	0.0095737
280	0.0221728	0.0264721	0.0312867	0.0073584	0.0086797	0.0098588
290	0.0243835	0.0299991	0.3143977	0.0074138	0.0088191	0.0101152
300	0.0259063	0.0339088	0.3052950	0.0074556	0.0089386	0.0103450
310	0.0273552	0.0412729	0.2957258	0.0074850	0.0090392	0.0105487
320	0.0295215	0.2320927	0.2871648	0.0075028	0.0091223	0.0107282
330	0.0308606	0.2217800	0.2777339	0.0075102	0.0091890	0.0108845
340	0.0320841	0.2104683	0.2686180	0.0075078	0.0092405	0.0110189
350	0.0331867	0.2002506	0.2600178	0.0074964	0.0092777	0.0111328
360	0.0349827	0.1883277	0.2512718	0.0074770	0.0093017	0.0112273
370	0.0358546	0.1770646	0.2418585	0.0074501	0.0093136	0.0113037
380	0.0365895	0.1639854	0.2330025	0.0074164	0.0093141	0.0113630
390	0.0371963	0.1507235	0.2240809	0.0073764	0.0093044	0.0114067
400	0.0376782	0.1356564	0.2150934	0.0073310	0.0092850	0.0114353

Tableau 13 : La solubilité de **Triphenylmethane** dans **Propane** et **Propène** supercritique.

Pression (bar)	Triphenylmethane (Solubilité Y)	
	Propane(Solvant)	Propène(Solvant)
	380 °C Kij=0.0726	380 °C Kij=0.0413
100	0.6435769	0.6600432
110	0.6314771	0.6493561
120	0.6194839	0.6387834
130	0.6074742	0.6283271
140	0.5953783	0.6180022
150	0.5836771	0.6078035
160	0.5719700	0.5975391
170	0.5602766	0.5875949
180	0.5486028	0.5777671
190	0.5369479	0.5680577
200	0.5253041	0.5584673

210	0.5136565	0.5489883
220	0.5019864	0.5396238
230	0.4907706	0.5303680
240	0.4791276	0.5212249
250	0.4674329	0.5121906
260	0.4556587	0.5032616
270	0.4443935	0.4944378
280	0.4325386	0.4860065
290	0.4211179	0.4774075
300	0.4091052	0.4689116
310	0.3974969	0.4605118
320	0.3852099	0.4522144
330	0.3733390	0.4440162
340	0.3606313	0.4359162
350	0.3483739	0.4279085
360	0.3358373	0.4199992
370	0.3229786	0.4121819
380	0.3097509	0.4044596
390	0.2960830	0.3968284
400	0.2818879	0.3892901

Tableau 14 : La solubilité de **Triphenylmethane** dans **CO2** et **Ethane** supercritique.

Pression (bar)	Triphenylmethane (Solubilité Y)					
	CO2(Solvant)			Ethane(Solvant)		
	313 °C Kij=0.093	323 °C Kij=0.0917	333 °C Kij=0.0905	313 °C Kij=0.1174	323 °C Kij=0.1178	333 °C Kij=0.118
100	0.0008334	0.0001425	0.0000686	0.0007311	0.0006582	0.0005427
110	0.0016504	0.0004398	0.0001642	0.0008434	0.0008149	0.0007377
120	0.0022731	0.0008989	0.0003645	0.0009444	0.0009584	0.0009240
130	0.0028344	0.0016485	0.0006903	0.0010976	0.0011607	0.0011736
140	0.0033391	0.0022904	0.0012609	0.0011875	0.0012932	0.0013553
150	0.0037919	0.0029154	0.0018555	0.0012688	0.0014149	0.0015252
160	0.0041969	0.0035095	0.0024957	0.0013423	0.0015263	0.0016833
170	0.0045583	0.0040664	0.0031511	0.0014087	0.0016282	0.0018301
180	0.0048796	0.0045836	0.0038021	0.0014684	0.0017212	0.0019658
190	0.0054692	0.0053903	0.0044355	0.0015221	0.0018059	0.0020910
200	0.0057452	0.0058795	0.0053913	0.0015701	0.0018828	0.0022062
210	0.0059874	0.0063283	0.0060467	0.0016129	0.0019525	0.0023120
220	0.0061985	0.0067375	0.0066698	0.0016509	0.0020154	0.0024088
230	0.0063808	0.0071081	0.0072573	0.0016845	0.0020720	0.0024972
240	0.0065367	0.0074422	0.0078073	0.0017139	0.0021227	0.0025776
250	0.0066679	0.0077406	0.0083188	0.0017395	0.0021680	0.0026506
260	0.0067770	0.0080058	0.0087912	0.0017615	0.0022081	0.0027165
270	0.0068650	0.0082394	0.0092249	0.0017802	0.0022435	0.0027758
280	0.0069344	0.0084432	0.0096206	0.0017959	0.0022745	0.0028290
290	0.0069862	0.0086191	0.0104193	0.0018088	0.0023013	0.0028762
300	0.0070225	0.0087687	0.0107714	0.0018191	0.0023242	0.0029181
310	0.0070441	0.0088941	0.0110860	0.0018269	0.0023436	0.0029549
320	0.0070528	0.0089968	0.0113642	0.0018325	0.0023596	0.0029869
330	0.0070496	0.0090783	0.0116080	0.0018361	0.0023724	0.0030143
340	0.0070355	0.0091406	0.0118189	0.0018377	0.0023824	0.0030377
350	0.0070117	0.0091848	0.0119980	0.0018375	0.0023898	0.0030570
360	0.0069792	0.0092124	0.0121479	0.0018357	0.0023946	0.0030728
370	0.0069387	0.0092249	0.0122698	0.0018323	0.0023970	0.0030851

380	0.0068911	0.0092234	0.0123657	0.0018276	0.0023973	0.0030942
390	0.0068372	0.0092091	0.0124372	0.0018216	0.0023956	0.0031003
400	0.0067777	0.0091833	0.0124864	0.0018144	0.0023921	0.0031037

TRAVAUX REALISES PENDANT LA THESE

Optimization of Supercritical Carbon Dioxide Extraction of Phenolic Compounds from Algerian Plant (*Peganum harmala* Seeds) using Box-Behnken Design

Sarra Melloul^{1,*}, Raouf Zehioua¹ and Abdeslam-Hassen Meniai¹

¹ Université Constantine 3 Salah Boubnider

* *Corresponding authors: sarramelloul@live.fr; Tel.: +213793176164.*

Abstract: The present study considered the extraction of phenolic compounds from seeds of a natural local plant, known as *Peganum harmala*, by means of a supercritical carbon dioxide extraction. A Box-Behnken statistical design was used to optimize the extraction yield, hence the phenolic compounds, with respect to the operating parameters: pressure, temperature and particle size at a fixed supercritical CO₂ flow rate of 50 g min⁻¹ and for an extraction time of 180 min. A maximum total phenolic content (TPC) of 79.04 mg GAE/g E was obtained at 100 bar and 35°C for a particle size of 0.9 mm.

Keywords: Carbon dioxide; Phenolic compounds; Box-Behnken.

1. Introduction

New bioactive compounds extracted from natural plants are regularly tested in traditional medicine. Recently applications have been extended to pharmaceutical, cosmetic and food industries, due to the development of oil extraction techniques, particularly those based on the use of a supercritical fluid, avoiding organic solvents and their consequences towards the human health and the environment[152]. Carbon dioxide at supercritical state is currently used due to obvious advantages like its great availability, low cost, low critical properties, no environmental impact, etc. [153].

Therefore *Peganum harmala* a local natural plant from zygophyllaceae family was considered[28]. It is a growing plant highly present in Mediterranean, Asian, American and Australian countries [3-5]. Its main interest lies in its alkaloids composition, hence its biological activities and properties [4]. This has particularly encouraged the study and determination of the effects of the operating conditions of pressure, temperature, particle size and a fixed CO₂ flow rate and extraction time on the total phenolic compounds content of extracts obtained from *Peganum Harmala* L. seeds, via a Box-Behnken statistical design.

2. Materials and Methods

2.1. Plant material

Peganum Harmala L. seeds were obtained from last spring harvest, in the east of Algeria. They underwent a washing, drying, grinding into small particle sizes and sieving for a classification into three classes of 0.5, 0.7 and 0.9 mm in diameter, respectively.

2.2. Chemicals and reagents

Air Liquide Algeria supplied 99.99% pure Carbon dioxide.

2.3. Methods

2.3.1. Supercritical CO₂ extraction

The supercritical fluid extraction was performed by means of a machine purchased from Separex (France). A mass of 50 g of crushed *Peganum Harmala* leaves in a 50 mL stainless steel cylindrical was put into contact with the supercritical CO₂ for 3 hours, changing for each experimental run the temperature and the pressure.

2.3.3. Experimental design

Box-Behnken design was applied to optimize the extraction yield of *Peganum harmala* oil. The three considered factors were the particle size (x_1), the temperature (x_2) and the pressure (x_3), in ranges of [0.5, 0.9 mm], [35, 55°C] and [100, 300 bar], respectively, as shown in the following table:

Table 1: The level of variables chosen for the Box–Behnken design

Variables (coded)	x_1 (mm)	x_2 (°C)	x_3 (bar)
-1	0.5	35	100
0	0.7	45	200
1	0.9	55	300

3. Results and Discussion

Different oil extraction yield values were obtained for the different extracts, depending on the adopted operating conditions. These results were used to optimize the objective function by means of an experimental design to obtain the operating parameters values corresponding to the highest value of the yield as well as the total phenolic content.

The obtained optimum operating parameters were 100 bar, 35°C and 0.9 mm, for the pressure, temperature and particle size, corresponding to an optimum oil extraction yield value of 79.04 mg GAE/g E%.

4. Conclusion

The present study has shown carbon dioxide supercritical extraction can be used to valorize natural plants like *Peganum harmala*, present in abundance in nature, with no cost, no environmental impact, etc. It may also be an important source of oil characterized by an important antioxidant potential that can be exploited in many applications in the agro-food and pharmaceutical industrial fields.

Supercritical carbon dioxide extraction of oils from natural local plants

Sarra Melloul*, Raouf Zehioua, Abdeslam-Hassen Meniai

Laboratoire de l'ingénierie des Procédés de l'Environnement, Université Constantine 3 Salah Bounider, Constantine Algeria

Abstract

Algeria is a country rich in various plants of great medicinal value which are not well exploited. This has encouraged the present work which considered the extraction of oil by means of supercritical carbon dioxide extraction (SFE), from chosen local plants characterized by the presence of many compounds of biological importance such as phenolic and alkaloids. Experimental SFE had been carried out focusing on the optimization of the oil extraction yield and the composition to meet specific goals in the pharmaceutical or food industries. The antioxidant activity was measured basing on the 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) test. The results showed the obtention of very interesting oil extraction yields with quite good composition and antyoxydant capacity, comparatively to conventional extraction techniques, hence confirming the reliability of the SFE technique regarded as a clean and green process.

Keywords: Carbon dioxide; high pressure; DPPH; antioxidant activity, extraction yield

The first **I**nternational **S**eminar on **M**aterials **S**ynthesis and **E**nvironmental **M**onitoring (**ISMSEM 2022**), that will be held in Ouargla (Algeria), from **07th to 09th February 2022**.

Supercritical carbon dioxide extraction of oil from *Plantago psyllium* husks and seeds, and optimization using Box-Behnken design based multi-response analysis.

Sarra Melloul¹; Raouf Zehioua¹; Abdeslam-Hassen Meniai¹

1: University Salah Boubnider Constantine 3, Faculty of Process Engineering, Department of Chemical Engineering, Environmental Process Engineering Laboratory (LIPE), Constantine, Algeria,

Abstract

The present study considered the oil extraction from husks and seeds of *Plantago psyllium*, by means of a supercritical fluid extraction (SFE) using carbon dioxide. A Box-Behnken statistical design based multi-response analysis was used to investigate the effect of operating parameters like pressure (100-300 bar), temperature (40-60 °C), particle size (0.25-0.85 mm) and time (30-180 min) at a fixed supercritical CO₂ flow rate.

The phytochemical tests were also carried out on the extracts, by qualitative characterization reactions and quantitative analysis.

The adopted approach had the merit to consider two aspects: (i) an experimental work based on the supercritical fluid extraction technology; (ii) a modeling and optimization part based on a Box-Behnken statistical design to investigate the effect of the considered operating.

Keywords: *Carbon dioxide; Supercritical extraction; Box-Behnken statistical; multi-response analysis; Optimization, phytochemical screening*



Evaluation of antibacterial activity of Peganum harmala seeds extracts obtained by supercritical and conventional methods against Bacillus subtilis (ATCC 6633) and Escherichia coli (ATCC 25922)

Sarra melloul^a, Boucherit Zeyneb^b, Zehioua Raouf^a, Abdeslam Hassan Meniai^a

(a) Laboratory of Environmental engineering processes, university of Constantine3, Algeria

*(b) Laboratory for Obtaining Therapeutic Substances, LOST, Campus Chaabet Ersas, university of Constantine 1, Algeria
E-mail: Sarramelloul@live.fr*

ABSTRACT

Supercritical fluid extraction (SFE) with carbon dioxide has shown to be an attractive non-conventional separation method in the food industry due to several advantages comparatively to conventional techniques based on the use of organic solvents.

Supercritical CO₂ extracts from local *P. harmala* seeds, were obtained at different operating conditions and their antibacterial activity was determined evaluated in order to investigate the effect of operating parameters like pressure (100-300 bar), temperature (35-55 °C), particle size (0.5-0.9 mm) at a fixed supercritical CO₂ flow rate. The results were compared with those obtained by the traditional Soxhlet method considering different microorganisms.

The results showed that the considered herbs were a valuable source of compounds with a good antibacterial activity, depending on the operating conditions.

KEYWORDS: Supercritical CO₂; Conventional method; Antibacterial activity; Soxhlet; *P. harmala*.



Poster ID :
■■■

International Congress of Energies and Engineering of Industrial Processes CEGPI'22
 USTHB, Algiers 23 - 25 May 2022

Evaluation of antibacterial activity of Peganum harmala seeds extracts obtained by supercritical and conventional methods against Bacillus subtilis (ATCC 6633) and Escherichia coli (ATCC 25922)

Sarra melloula, Boucherit Zeynebb, Zehioua Raoufa, Abdeslam Hassan Meniaia

Organisation Address,
 corresponding author e-mail Sarramelloul@live.fr




Abstract

Supercritical CO₂ extracts from local P. harmala seeds, were obtained at different operating conditions and their antibacterial activity was determined evaluated in order to investigate the effect of operating parameters like pressure (100-300 bar), temperature (35-55 °C), particle size (0.5-0.9 mm) at a fixed supercritical CO₂ flow rate. The results were compared with those obtained by the traditional Soxhlet method considering different microorganisms. The results showed that the considered herbs were a valuable source of compounds with a good antibacterial activity, depending on the operating conditions.

Introduction

Peganum harmala belongs to zygothylaceae family made of about 27 genera and 285 species[1]. It is a wild growing flowering plant, highly present in North Africa, in Mediterranean, middle and far East countries like southern parts of Iran, Pakistan and India [2], [3]. Its fame is mainly due to its exceptional composition in alkaloids and their various interesting biological activities [2], [4].

Results

The antibacterial activity of supercritical extracts is summarized in fig 1. This study involves the use of seeds of peganum harmala.

The low bacterial strains showed different response to the supercritical extracts when used as antibacterial agent.

About 92,31 % from Supercritical extracts from the same plant extracted at different operating conditions (13 extracts) has inhibited the growth of Bacillus subtilis (ATCC 6633) bacterial strain , with inhibition diameters of 08,5 to 12 mm. while, it showed a lower percent (30,77 %) against the Escherichia coli (ATCC 25922) bacteria, it has inhibited the growth with diameters (09 to 13 mm).

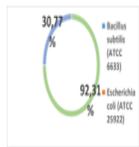


Fig.2

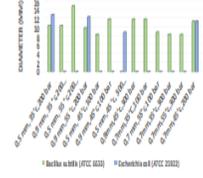


Fig.1 The diameters of the zones of inhibition of the different supercritical extracts of peganum harmala seeds.

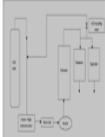
Materials and Methods

Supercritical CO₂ extraction

A supercritical fluid extraction machine (Separex-4219) supplied by Separex (Champigneulle, France) was used. For each experimental run a mass of 50 g of crushed Peganum Harmala leaves were introduced into a 50 mL stainless steel cylindrical vessel the ends of which are protected by filter mesh screens to prevent any particles entrainment by supercritical phase. The duration of each run was around 3 hours, using supercritical CO₂ at different conditions of temperature and pressure.

Antibacterial assay

The extracts obtained were tested to evaluate the antibacterial activity. This test was evaluated by the diffusion disc method, against two bacteria (Bacillus subtilis (ATCC 6633) and Escherichia coli (ATCC 25922)) These bacteria must be subcultured by the streak method on Mueller Hinton agar, and then incubated at 37°C to obtain fresh colonies which will be used to prepare the inoculum.


➔

➔


The supercritical carbon dioxide extraction pilot

Discussion and Conclusions

From this antibacterial study, it can be observed that gram positive bacteria (B. subtilis) is more susceptible than gram negative bacteria. Gram negative bacteria, E. coli, which is already known to be multi-resistant to drugs. This study demonstrated the significant effect of the supercritical extraction process, and this shows, according to these results, that there is a relationship between the antibacterial activity and the operating conditions used in the extraction processes (fig 1 & 2). The resistance of bacterial strains differed according to the different operating conditions, where the highest value of inhibition was recorded at 0.5 mm, 55 °C and 200 bar for B. subtilis, while the highest value was recorded at 0.5 mm, 35 °C and 200 bar for Escherichia coli (fig.1).

References

[9] M. Kchaou et al., « Chemical Composition and Biological Activities of Zygophyllum album (L.) Essential Oil from Tunisia », p. 12, 2016.

[10] A. e A. Isabela et al., « Chemical study of Peganum harmala seeds », Afr. J. Biotechnol., vol. 18, no 21, p. 462-471, mai 2019, doi: 10.5897/AJB2019.16762.

CEGPI'22 USTHB, Algiers 23 - 25 May 2022

www.cegpi22-usthb-dz.com

Effect of supercritical extraction parameters on bioactive compounds.

MELLOUL Sarra^{1*}, ZEHIOUA Raouf¹, MENIAI Abdeslam Hassan¹,

¹*Laboratory of Environmental engineering processes, university of Constantine3, Algeria*

Email*:sarramelloul@live.fr

ABSTRACT

Introduction:

Researchers show great interest to the study of the natural bioactive regarding the possibility of using them as an alternative to the synthetic compounds used to food and pharmaceutical sectors.

The increasing evidence correlating diet and chronic illnesses, the limitation imposed on the application of food additives produced from synthetic chemicals as well as their banishment in some food products, made incorporation of natural food additives as one of the most important trends in the food industry today

Objectives:

Supercritical CO₂ was used, in order to investigate the effect of operating parameters like pressure (100-300 bar), temperature (35-55 °C), particle size (0.5-0.9 mm) at a fixed supercritical CO₂ flow rate on the bioactive compounds.

Materials and Methods:

A supercritical fluid extraction machine (Separex-4219) was used. For each experimental run a mass of 50 g of crushed seeds were introduced into a 50 mL stainless steel cylindrical vessel the ends of which are protected by filter mesh screens to prevent any particles entrainment by supercritical phase. The duration of each run was around 3 hours, using supercritical CO₂ at different conditions of temperature and pressure, and their bioactive compounds were identified using GC-MS method.

Results:

The determined extraction conditions for an optimal extraction yield were a pressure of 300 bar, a temperature of 55 °C and particle size of 0.5 mm.

Conclusion:

The results showed that the considered herb were a valuable source of bioactive compounds with a good biological activity, depending on the operating conditions.

Keywords: Supercritical CO₂; GC-MS; bioactive compounds; Fatty acid

Effect of supercritical extraction parameters on bioactive compounds.

MELLOUL Sarra¹, ZEHOUA Raouf¹, MENTAI Abdeslam Hassan¹,

¹ Laboratory of Environmental engineering processes, university of Constantine², Algeria
Email*:sarrameloul@live.fr

Introduction

An increasing interest is currently shown by researchers to natural bioactive substances, exploring any possible use as alternatives to synthetic compounds usually involved in food, pharmaceutical and cosmetic fields.

The clear evidence relating dietary modes and chronic illnesses, the limitations imposed on the use of food additives produced from synthetic chemicals as well as their banishment in some food products, made the incorporation of natural food additives as one of the most important trends in the food industry, nowadays.

An ideal extraction method should be fast and easy to operate in order to lead to a quantitative and qualitative recovery without any compound degradation along with an easy separation of the extracts from the solvent. The development and application of alternative green technology to replace conventional extraction methods with improved extraction efficiency and low environmental impact for the extraction of substances from natural bioactive compounds is therefore very important. Supercritical fluid technology may offer features that overcome many limitations of conventional extraction methods [1].

Objective

Supercritical CO₂ extraction was carried out, investigating the effect of operating parameters like pressure (100-300 bar), temperature (35-55 °C), particle size (0.5-0.9 mm) at a fixed supercritical CO₂ flow rate, on various performance criteria like the extraction yield from the bioactive compounds.

Materials and Methods



Fig.1 The Supercritical CO₂ extraction pilot

The supercritical fluid extraction (Separex-4219) machine shown in Fig.1 was used. For each experimental run a mass of 50 g of crushed seeds were introduced into a 50 mL stainless steel cylindrical vessel the ends of which are protected by filter mesh screens to prevent any particles entrainment by supercritical phase. The duration of each run was around 3 hours, using supercritical CO₂ at different conditions of temperature and pressure, and their bioactive compounds were identified using GC-MS method.

Results

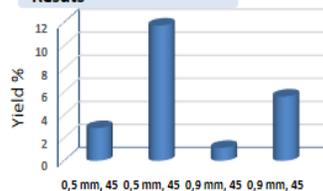


Fig 2, Experimental results extraction yields

Table 1: Oil extracts composition by Gc-MS analyses (GC-MS),

	0,5 mm, 45°C, 300 bar	0,5 mm, 45°C, 100 bar	0,9 mm, 45°C, 100 bar	0,9 mm, 45°C, 300 bar
C16H32O2	0.18	0.22	0.15	0.11
C20H42O	-	-	0.46	-
C16H34O	0.17	0.23	-	-
C19H36O2	0.21	-	-	0.15
C17H32O2	0.35	0.32	0.20	0.24
C17H34O2	15.29	14.48	10.49	13.15
C19H36O	-	-	-	0.24
C16H32O2	0.13	-	0.27	0.23
C15H26O2	-	0.19	-	-
C21H40O2	0.23	-	-	0.20
C18H36O2	0.25	0.21	-	-
C21H40O2	-	-	1.09	-
C19H34O2	45.18	47.69	53.21	48.50
C19H36O2	38.03	33.48	30.60	33.90
C19H36O2	-	2.97	-	3.30

Effect of operating parameters

Different oil extracts obtained by means of the supercritical carbon dioxide extraction are shown in Fig.2.

Generally, a pressure increase induces a significant increase in the oil extraction yield. This is explained by the fact that a pressure increase of the supercritical solvent leads to an increase of the solvent power and a better oil solubility in solvent, resulting in an enhanced oil extraction yield [2]. In addition, it is clear that a small particle size provides more mass transfer area than a larger one. This is well followed by the results of Fig. 2 where for a given temperature and pressure, the highest yield corresponded to the smallest particle size. For instance for a particle size of 0.9 mm, a temperature of 45°C and a pressure of 300 bar, the yield was 5,58 %, and at the same conditions but for particle sizes of 0.5 mm, the corresponding yield values was 11,74%.

The chemical composition of the supercritical extracts of Peganum harmala was determined by gas chromatography coupled to mass spectrometry. Base compounds were identified in the extracts, with only three major compounds. Table 1 shows the composition of the oil changes according to the operating conditions used,

Conclusion

The present study has shown that carbon dioxide supercritical extraction can be used to valorize natural plants like Peganum harmala, present in abundance in nature, with no cost, no environmental impact, etc. It may also be an important source of oil characterized by an important biological activities that can be exploited in many applications in the agro-food, pharmaceutical industrial and cosmetic fields.

References

- [1] M. K. Hrnčić, D. Čor, M. T. Verboten, et Ž. Knez, « Application of supercritical and subcritical fluids in food processing », Food Qual. Saf., vol. 2, no 2, p. 59-67, juin 2018, doi: 10.1093/fqsafefry008.
- [2]-Lang, Q., Wai, C.M. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies — a practical review, Talanta. 53 (2001), 771-782.

December 13th, 2022

Certificate of presentation

Ref.: IREC/80/2022

Manuscript reference: ID: 163

Title: *Study of the effect of supercritical extraction parameters of Peganum harmala seed oil on Candida albicans 570*

Session: *MCEG: Materials For Clean Energy Generation*

Authors: *Sarra Melloul, Raouf Zehioua, Abdeslam-Hassen Meniai*

Affiliation: *Université Constantine 3, Algeria, Algeria*

This is to certify that **Professor Abdeslam-Hassen Meniai** presented **Orally** the above mentioned paper at the **13th International Renewable Energy Congress "IREC 2022"** organized in Hammamet - Tunisia on December 13th – 15th, 2022.

The paper has been published in the congress proceedings.

This certificate is delivered to be worth and serve what of right.

Professor Maher Chaabene
The IREC General Chair



The Chairman
Prof. Maher CHAABENE
Email : info@irec-conference.com



People's Democratic Republic of Algeria
Ministry of Higher Education and Scientific Research



Abou Bekr Belkaid University of Tlemcen, Algeria

1st INTERNATIONAL CONGRESS ANALYTICAL CHEMISTRY, ELECTROCHEMISTRY
AND SEPARATION TECHNIQUES

ICACEST'2022

October 15th and 16th, 2022

CERTIFICATE OF ATTENDANCE

The chairman of the ICACEST'2022 certifies that :

MELLOUL Sarra

has presented a Poster Communication, entitled :

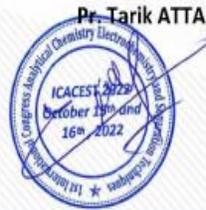
«EFFECT OF SUPERCRITICAL EXTRACTION PARAMETERS ON BIOACTIVE COMPOUNDS»

Co-authors : ZEHIOUA Raouf, MENIAI Abdeslam Hassan

Laboratoire de Recherche
TOXICOMED
Equipe Metox

Chairman

Pr. Tarik ATTAR





République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
École Normale Supérieure d'Enseignement Technologique de Skikda
Département des Sciences Naturelles



ATTESTATION DE PARTICIPATION

N°: B. CO. 9

Le comité scientifique du 1^{er} Séminaire National sur Plantes, Molécules Bioactives et Valorisation (SN-PMBV-2022), organisé les 22 et 23 Novembre 2022, atteste que:

Mme. MELLOUL Sarra

a présenté une communication orale.

Titre: ÉVALUATION DE L'ACTIVITÉ ANTIOXYDANTE D'EXTRAITS MÉTHANOLIQUE ET SUPERCRITIQUE DE LA PLANTE MARRUBIUM VULGAR.

Co-auteur: ZEHIOUA Raouf et MENIAI Abdeslam-Hassan.

Le directeur adjoint

Dr. OUMELAZ Fayça



La présidente du séminaire

Dr. HENI Sonia





Contents lists available at ScienceDirect

Sustainable Chemistry and Pharmacy

journal homepage: www.elsevier.com/locate/scp



Supercritical CO₂ extraction of bioactive compounds from local Peganum Harmala plant seeds and optimization of the extraction yield and the antioxidant activities

Sarra Melloul, Raouf Zehioua, Abdeslam-Hassen Meniai^{*}

Laboratory of Environmental Engineering Processes, University of Constantine3, Algeria

ARTICLE INFO

Keywords:

Carbon dioxide

Extraction yield

Phenolic compounds

Antioxidant activity

Response surface methodology

ABSTRACT

A great variety of natural plants provide an important source of bioactive compounds having interesting applications in sensitive fields like food, pharmaceutical and cosmetic industries, particularly with the development of the supercritical carbon dioxide extraction. Therefore the present study focused on the study of this technique to extract valuable bioactive substances from seeds of a local natural plant known as Peganum harmala. The properties of the extracts were also considered, particularly insisting on the antioxidant activity potential. The extraction yield was optimized and the corresponding operating conditions were determined. A Box-Behnken statistical design was used to investigate the effect of operating parameters like pressure, temperature and particle size at a fixed supercritical CO₂ flow rate of 50 g min⁻¹ for an extraction time of 180 min. Furthermore, the total antioxidant activity of the plant extracts was assessed using the 2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH) method whereas the Response surface methodology (RSM) combined with Box-Behnken design was used for the optimization of process key parameters. The highest extraction yield was achieved at a pressure of 300 bar, a temperature of 55 °C and a



Nom et Prénom: Sarra MELLOUL
Titre : CONCEPTION DE FLUIDE SUPERCRITIQUE
POUR L'EXTRACTION A FLUIDE SUPERCRITIQUE
D'HUILE DES PLANTES NATURELLES

Thèse en vue de l'Obtention du Diplôme de
Doctorat troisième cycle en Génie des Procédés, en Génie Chimique

Résumé

Le présent travail traite de l'utilisation de l'extraction par fluide supercritique pour obtenir des huiles à partir de deux plantes naturelles locales choisies, à savoir les graines de *Peganum harmala* et de *Plantago ovata*. Le procédé d'extraction a été réalisé dans différentes conditions expérimentales de pression, de température et de granulométrie. En utilisant Box Behnken, le rendement optimal en graines de *Peganum harmala* a été de 15.001 % à 300 bars, 55 °C et une granulométrie de 0.5 mm, alors que pour les graines de *Plantago ovata*, il a été de 11.109% à 240 bar, 60°C et granulométrie 0.25mm. Les activités biologiques (antioxydante, antibactérienne et antifongique) de ces extraits ont également été évaluées. Le piègeur de radicaux DPPH a été utilisé pour évaluer l'activité antioxydante. Les valeurs optimales pour l'IC50 et le TPC ont été de 172.99 µg/mL et 79.04 mg GAE/g E, respectivement à une pression d'extraction de 100 bar, une température de 35°C et une granulométrie de 0.9 mm. Cependant pour le TFC, une valeur optimale de 7.10 mg QE/g E a été obtenue à une pression de 170.7 bar mais toujours à une température et une granulométrie de 35°C et 0.9 mm, respectivement, alors qu'aucune activité n'a été enregistrée pour les graines de *Plantago ovata*, contrairement aux extraits obtenus par extraction Soxhlet au méthanol, où les résultats ont été estimés à 90 mg/ml et 35 mg/ml pour les graines de *Peganum harmala* et *Plantago ovata*, respectivement. Quant à l'activité antibactérienne, la capacité de 15 extraits de graines de *Peganum harmala* et de 15 extraits de *Plantago ovata*, à stabiliser 4 types de bactéries en plus de la levure candidate, a été testée. Quant à l'activité antifongique, sept champignons ont été testés. Des résultats différents ont été obtenus selon les bactéries et les champignons utilisés. De plus, les différents résultats ont été liés aux conditions expérimentales adoptées. Les résultats obtenus par extraction Soxhlet ont été bien meilleurs que ceux extraits par le dioxyde de carbone supercritique, malgré les avantages apportés par ce dernier. Cet inconvénient a encouragé le développement d'une stratégie de conception moléculaire des fluides supercritiques, utilisant le concept de contribution de groupe. Cinq nouveaux fluides supercritiques (CF₄, CF₃CF₃, CF₃CH₃, CH₂NCF₃ et CF₃CF₂CH₃), ont été testés et ont montré de bien meilleures solubilités de deux solutés choisis (Climbazole, Irgacure) par rapport à celles dans le CO₂ supercritique à des plages de pression et de température données, contrairement à un troisième soluté (Triclocarbon) où seul le CF₃CF₂CH₃ proposé a montré légèrement une meilleure solubilité que dans le CO₂ supercritique. Enfin une autre approche a été proposée pour optimiser la composition de l'extraction en fonction d'un composé particulier directement lié à une activité de propriété ciblée particulière. Cela reste à affiner pour aboutir à un outil important pour l'obtention d'extraits sur mesure.

Motsclés :CO₂ supercritique ; *Peganum harmala*; *Plantago ovata* ; Activités biologiques; méthode de contribution de groupe ; Equation d'état.

Directeur de thèse: Raouf ZEHIOUA-Université Constantine3

Année Universitaire: 2022-2023