

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Abderahmane Mira. Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Alimentaires

Filière : Sciences Alimentaires

Option : **Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire**



Réf :

Mémoire de fin d'étude

En vue de l'obtention du diplôme **MASTER**

Thème :

***Optimisation de l'extraction des composés phénoliques par
micro-ondes à partir d'un déchet industriel***

Préparé par :

Mlle. Ait Abdelmalek Tinhinane & Mlle. Adnane Hanane

Soutenu le : 24 Juin 2023 à 8h

Devant le jury composé de :

Mme.Hamri Sabrina

Président

Mme.Fella Samira

Examineur

Mme.Guemghar Hayete

Promoteur

2022-2023

Remerciement :

Louange à Dieu tout puissant, qui nous a permis de voir ce jour et d'honorer nos familles,
Il nous est agréable tous d'abord d'exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à
notre promotrice **Mme.Guemghar.H** d'avoir acceptée de nous encadrer et de nous avoir
orientée durant toute la période du travail et d'avoir été toujours présente à répondre à nos
questions.

Nos sincères remerciements vont à notre co-promotrice la doctorante Achrare Salima qui a
fait preuve d'un grand apport pour la réalisation de ce travail, un grand merci pour ses efforts,
son aide morale et physique et ses conseils qui ont guidé nos réflexions afin d'apporter les
meilleur résultats.

Comme on adresse nos remerciements aux travailleurs de laboratoire d'analyses instrumental
de la faculté Science de la Nature et de la Vie et à toutes les personnes qui ont contribué de
près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace :

Je dédie ce travail

*À mes chères et précieux parents **Akila** et **Rabah** ;*

*À mes deux magnifiques sœurs **Sakina** et **Hanifa** et mes frères
Makhlouf et **Elhadi** ;*

*Au meilleur mari au monde **Laly Bessaa** ;*

*À mon âme sœur et ma binôme **Tina** d'amour ;*

*À mon cher oncle **Zoubir** ;*

*À mes nièces **Cyrine**, **Ryma**, **Imene**, **Zira** et la petite cerise **Bouchra** ;*

*À mes neveux **Islam**, **Wassim**, **Merwane** et **Nazim** ;*

*À la mémoire de ma merveilleuse copine **Sabah** qu'a quitté ce monde
très tôt que le paradis soit sa demeure éternelle insha'Allah ;*

À toute ma famille proche et lointaine ;

À tous mes amis ;

*Et à toute personne qui m'aime sans contrepartie : je vous adore avec
engagement...*

Hanane

Dédicace

Je dédie ce travail

Aux meilleurs parents ; les deux personnes que j'aime le plus au monde

*A ma précieuse mère **Zina**, à la plus belle création de dieux qui a fait de moi la femme que je suis aujourd'hui,*

*A mon très cher père **Abd Enacer-Djamel**, Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité.*

Merci à vous deux ; merci pour votre amour.

*A mes moitiés, mes grandes sœurs **Wassila** et **Karima** à mon seul et unique frère **Aïmed** qui m'ont toujours encouragés, merci pour votre patience et pour l'aide que vous m'avez apporté.*

*Sans oublié mon beau-frère **Slimen** merci à toi aussi,*

*A mes petits neveux adorés **Islem** et **Racim** ma poupée **Anaïs**, vous avez apportés beaucoup de bonheur à notre famille*

*A ma copine depuis toujours, ma binôme **Hanane** à qui je souhaite tous le bonheur car elle le mérite,*

*A tous les membres de ma famille **Aït Abdelmalek** et **Kara***

A toute personne qui m'aime et ma soutenu de près ou de loin.

Tinhinane

Liste des figures

Figure 1 : Photographie des trois espèces des graines de la moutarde jaune, brune, noire respectivement (Anonyme 1).	4
Figure 2 : Photographie des différentes parties de la plante Brassica juncea (Anonyme 2).	4
Figure 3 : La réaction enzymatique de la conversion d'un glucosinolate en isothiocyanate par la myrosinase (Cutolo, 2018).	6
Figure 4 : Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-ondes.	8
Figure 5 : Distribution des dipôles sous l'effet dans un champ électrique.	8
Figure 6 : Photographie de poudre de son de moutarde tamisé.	15
Figure 7 : Schéma d'équipement micro-ondes (Guemghar et al.,2014).	16
Figure 8 : Protocole final de l'extraction par micro-ondes.	17
Figure 9 : Photographie de l'extrait après séchage.	19
Figure 10 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites.	26
Figure 11 : Courbe 3D de l'effet d'interaction de paramètres de concentration d'éthanol et de la puissance sur le rendement en CPT.	28
Figure 12 : Courbe 3D de l'effet d'interaction de paramètres de concentration d'éthanol et de temps d'extraction sur le rendement en CPT.	28
Figure 13 : Courbe 3D de l'effet d'interaction de paramètres de la puissance et de temps d'extraction sur le rendement en CPT.	29
Figure 14 : Profils des valeurs prédites et de la fonction de désirabilité.	30
Figure 15 : Pourcentage de pouvoir scavenger du radical DPPH de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune comparé avec le trolox.	31
Figure 16 : Pourcentage de pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde comparé avec le Trolox.	32
Figure 17 : Pourcentage de la capacité antioxydante (ABTS) de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune.	33
Figure 18 : Pourcentage de l'activité antioxydante totale (molybdate) de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune.	34
Figure 19 : Pourcentage de pouvoir chélateur du fer ferreux de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune comparé avec l'EDTA.	35
Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune comparé avec l'indométacine.	36
Figure 21 : Pourcentages d'inhibition de l'alpha amylase par l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde comparé à l'acarbose.	37

Liste des tableaux

Tableau 1 : Informations nutritionnelles des graines de moutarde pour une valeur de 100 grammes.....	5
Tableau 2 : Plan expérimental de l'optimisation de l'extraction assistée par micro-ondes des CPT (exprimé en mg d'équivalent d'acide gallique/100g de poudre sèche) à partir de son des graines de moutarde brune.....	24
Tableau 3 : ANOVA pour l'effet de la concentration d'éthanol, de la puissance et du temps d'extraction sur le rendement en CPT.	25
Tableau 4 : Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle.....	26
Tableau 5 : Conditions optimales pour l'extraction des CPT (mg EAG/g) de l'extrait de son des graines de moutarde brunes.	30

Tables des matières

Remerciement	
Dédicace	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Table des matières	
Introduction	

I- Les Graines De Moutarde

1 -Origine des graines de moutarde	3
2 –Caractéristiques des graines de moutarde	3
3-Valeur nutritionnelle	4
4- Composition des graines de moutarde en composés bioactifs	5

II- Extraction Par Micro-onde

1-Définition des micro-ondes	7
2-Principe	7
2-1-Rotation dipolaire	8
2-2- Conduction ionique	9
3- Technologie du four à micro-ondes	9
4-Facteurs influençant l'extraction assistée par micro-ondes	10
4-1-Puissance des micro-ondes	10
4-2-Temps d'extraction	10
4-3- Température	10
4-4- Nature et choix du solvant	10
5-Avantages et inconvénients de l'extraction par micro-ondes	11

III-Plan d'experiences

1-Principe	12
2-Types de plan	13
3-Intérêt et objectifs de l'utilisation de plan d'expériences	14
4-Avantages	14

IV-Matériels et Méthodes

1-Matériel végétal	15
1-1- Réactifs	15

2-Etude préliminaire	15
3-Plan d'expériences	16
3-1-Procédure d'extraction	16
3-2-Plan d'expériences	17
4-Dosage des composés phénoliques	18
5- Préparation des extraits secs	18
6- Activité antioxydante	19
6-1- Effet « scavenger » sur le radical DPPH	19
6-2- Effet « scavenger » sur le radical ABTS	20
6-3- Pouvoir réducteur	20
6-4- Activité antioxydante totale	21
6-5- Chélation des ions de fer ferreux	21
7- Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	22
8- Activité anti-diabétique <i>in vitro</i>	22
9-Analyse statistique	23

V-Résultats et Discussion

1-Optimisation de la procédure d'extraction assistée par micro-ondes	24
1-1- Ajustement du modèle	24
1-2- Signification des variables	27
1-3- Analyse de la surface de réponse	27
2-Conditions d'extraction optimale	29
3-Validation du modèle	30
4- Activité anti-oxydante	30
4-1- Effet « scavenger » sur le radical DPPH	31
4-2- Pouvoir réducteur	32
4-3- Capacité antioxydante ABTS	33
4-4-Activité antioxydante totale	33
4-5- Chélation des ions de fer ferreux	34
5- Activité anti-inflammatoire <i>in vitro</i>	35
6- Activité antidiabétique <i>in vitro</i>	36
Conclusion.....	39

Annexes

Références Bibliographiques

Résumé

Introduction

Les sous-produits agro-industriels ou déchets alimentaires comme leur nom l'indique, sont des déchets provenant des processus de fabrication, de transformation...qui représentent une source importante en composés bioactifs avec une forte activité antioxydante ce qui fait d'eux une source très importante en protéines, enzymes, antioxydants et autres (**Martinez-Inda et al., 2022 ; Shirahigue et al., 2020**).

Les composés bioactifs peuvent être appliqués dans divers produits tels que les aliments fonctionnels, les nutraceutiques, cosmétiques ou pharmaceutiques à des fins différentes (**Alok Sagar et al., 2017**). La première étape pour utiliser ces composés bioactifs consiste à extraire le composé ciblé de sa matrice d'origine, puis à l'analyser, et le caractériser (**Azmir et al., 2013**). Par conséquent, développer des méthodes efficaces avec des protocoles optimisés pour l'efficacité de l'extraction qu'est une étape cruciale (**Wen et al., 2020**).

Ces dernières années de nombreuses techniques d'extraction alternatives et nouvelles ayant pour but d'éviter les contraintes des techniques conventionnelles (macération, perfusion, percolation...) telles que les faibles rendements, altération des propriétés du matériel végétal, très long temps d'extraction et utilisation des grandes quantités de solvants, se sont développées et parmi celles qui émergent : les micro-ondes, les ultrasons et les fluides supercritiques. (**Chemat et al., 2011**).

L'extraction assistée par micro-ondes des composés bioactifs (huiles essentielles, arômes, huiles végétales, graisses, antioxydants ou colorants, polyphénols...) est un domaine de recherche d'un intérêt extrême dans plusieurs domaines de l'industrie (alimentaire, cosmétique, parfumerie, pharmaceutique, nutraceutique) grâce à sa rapidité, efficacité, et sélectivité (**Routray et Orast, 2012**). En utilisant des micro-ondes, des extractions reproductibles complètes peuvent être réalisées en quelques secondes ou minutes avec une reproductibilité élevée, réduisant les solvants et la consommation d'énergie, simplifiant la manipulation et le traitement, donnant une plus grande pureté aux produits, éliminant le post-traitement et préservation des composés thermosensibles (**Chemat et Cravotto, 2013**).

La moutarde brune du nom scientifique *Brassica juncea* est une plante économiquement importante, dérivée de la famille des crucifères (Brassicaceae) qui a été bien connue dans de nombreux pays depuis des siècles pour ses propriétés médicinales, saveur et arôme, valeurs nutritives, propriétés antimicrobiennes, effet stimulant, et activité antioxydante (**Tian et Deng, 2020**). Diverses parties de la plante sont comestibles et utilisées dans la médecine populaire et

Introduction

comme épice. Des études ont montré que les graines ont des propriétés antioxydantes, antidiabétiques, anxiolytiques et anti-inflammatoires (**Ogidi *et al.*, 2019**).

La famille des Brassicaceae sont une source de substances bioactives comme les glucosinolates (composés antioxydants) et les composés phénoliques. Les composés bioactifs sont un vaste groupe des métabolites secondaires dans les plantes qui fonctionnent comme des antioxydants, des composés défensifs ou de signalisation (**Sharma *et al.*, 2018**). L'acide sinapique et ses dérivés (SAD) sont des composés phénoliques prédominants chez les espèces de Brassicaceae. Le pouvoir antioxydant, antimicrobien, anticancéreux, anti-anxiété et anti-inflammatoires ont été attribués aux SAD (acide sinapique est ses dérivés) (**Fahmi, 2016**).

L'objectif de ce travail est d'optimiser l'extraction assistée par micro-ondes des composés bioactifs du son des graines de moutarde (moutarde brune) et évaluation de ses différentes activités biologiques.

I-Les Graines De Moutarde

Les graines de moutarde sont issues de la moutarde, plante herbacée qui fait partie de la famille des Brassicaceae (**Shekhawat et al., 2012**), contient de nombreux nutriments et des composés photochimiques comme les glucosinolates et les composés phénoliques (**Gok et al., 2020**). Utilisée pour préparer le fameux condiment, mais aussi comme épice et remède naturel.

Les graines de moutarde comprennent divers métabolites secondaires tels que les glucosinolates (l'azote et le soufre). La myrosinase ; c'est l'enzyme qui hydrolyse les glucosinolates pour produire des isothiocyanates, oxazolidine-2-thiones, nitriles et épithionitriles (**Kumar et al., 2011**).

Elles contiennent également des acides phénoliques tels que les acides hydroxycinnamiques, les acides hydroxycinnamoylquiniques, acides sinapiques, acides féruliques et acides p-coumariques (**Parotosh et Mental, 2022**). Ces métabolites secondaires se sont révélés antimicrobiens avec caractéristiques antioxydants (**Gok et al., 2020**).

1 -Origine des graines de moutarde :

Selon **kaur et al., (2014)**, la moutarde est cultivée dans de nombreuses régions d'Eurasie depuis des siècles, cultivés dans un climat subtropical et tempéré. Son origine principale est l'Asie centrale (nord-ouest de l'Inde), suivie de l'est de l'Inde, du centre et de l'ouest de la Chine, Myanmar, et l'Iran et le Proche-Orient (**Rakow, 2004**).

2 –Caractéristiques des graines de moutarde :

La moutarde se caractérise par un cycle de croissance rapide en 60-70 jours. La germination se produit en général dans les cinq jours après le semis à 20-25°C. Dans des conditions tropicales, la floraison peut également avoir lieu très rapidement ; un stress hydrique, ou un sol peu fertile, favorisant une floraison précoce. Les graines peuvent être prêtes pour la récolte dans les quatre semaines à partir de la floraison (**Hébert, 2020**).

Les graines de moutarde sont toutes petites, environ 2 mm de diamètre et ronde, sa récolte s'effectue juste avant que les graines ne mûrissent dans les gousses de la plante qu'est fauchée et séchée ce processus de séchage est essentiel pour prévenir la croissance de moisissures, augmenter la durée de conservation et garantir un stockage de longue durée (**Gunjan et Zaidi, 2014**). Il existe trois types des graines de moutarde la brassica alba ou

I- Les Graines De Moutarde

moutarde jaune, la brassica juncea ou la moutarde brune (figure n°02), la brassica nigra ou la moutarde noire (figure n°01) (**Kumar et al., 2011**).



Figure 1 : Photographie des trois espèces des graines de la moutarde jaune, brune, noire respectivement (Anonyme 1).



Figure 2 : Photographie des différentes parties de la plante Brassica juncea (Anonyme 2).

3-Valeur nutritionnelle :

Les graines de moutarde brune, ont une valeur calorique de 508 calorie/100g, soit un peu moins que celle de l'arachide, qui est de 561 calorie/100g (**Newkirk et al., 1997**). Les données nutritionnelles de la graine sont présentées dans le tableau n°01.

I- Les Graines De Moutarde

Tableau 1 : Informations nutritionnelles des graines de moutarde pour une valeur de 100 grammes.

Calories	508
Lipides	36 g
Acide gras trans	2g
Acide gras saturé	0g
Cholestérol	0 mg
Sodium	13 mg
Potassium	738 mg
Protéines	26 g
Vitamine C	7,1 mg
Fer	9,2 mg
Vitamine B6	0,4 mg
Magnésium	266 mg
Calcium	370 mg
Fibres alimentaires	12g
Sucre	7g

4- Composition des graines de moutarde en composés bioactifs :

Les graines de moutarde brune (*Brassica juncea*) contiennent divers composés bioactifs qui leur confèrent leurs propriétés aromatiques et potentiellement bénéfiques pour la santé (Ayadi *et al.*, 2022).

Selon Tian et Deng, (2020) les graines de moutarde brune sont riches en glucosinolates, des composés soufrés qui leur donnent leur goût piquant distinctif. Lorsque les graines de moutarde sont mâchées ou broyées, les glucosinolates sont convertis en isothiocyanates tels que les isothiocyanates d'allyle à l'aide d'une enzyme qu'est la myrosine (figure n°3). Les isothiocyanates ont montré des propriétés anticancéreuses, antioxydantes et anti-inflammatoires selon des études en laboratoire et sur des animaux (Torrijos *et al.*, 2023).

I- Les Graines De Moutarde

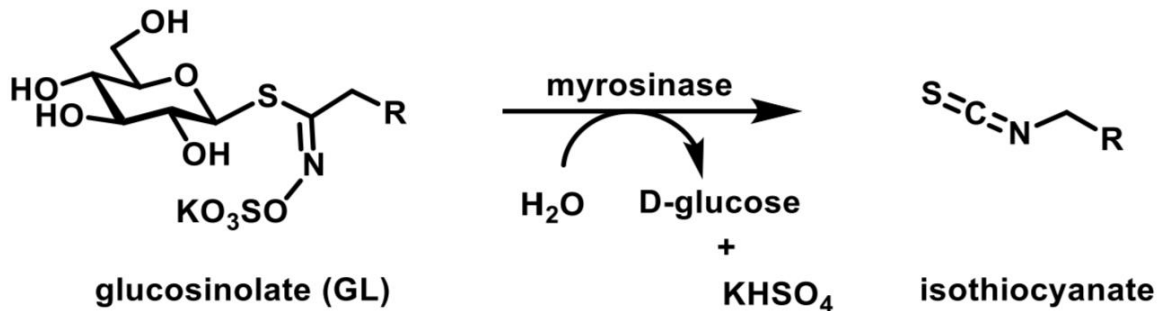


Figure 3 : La réaction enzymatique de la conversion d'un glucosinolate en isothiocyanate par la myrosinase (Cutolo, 2018).

Elles contiennent aussi des antioxydants tels que les flavonoïdes, les caroténoïdes. Ces composés aident à neutraliser les radicaux libres dans le corps, réduisant ainsi les dommages oxydatifs et le stress oxydatif (**Fabre et al., 1997**).

Selon **Yu et al., (2003)**, elles contiennent également des huiles essentielles qui leur confèrent leur arôme distinct.

Rapporté par **Mailer et al., (2008)**, les graines de moutarde brune contiennent des fibres solubles telles que la pectine, ces fibres solubles peuvent aider à réguler la glycémie, réduire le cholestérol sanguin et à favoriser une meilleure santé digestive en nourrissant les bonnes bactéries intestinales.

D'après **Joshi et al., (1998)**, parmi les composant de la graine on trouve une petite quantité d'acides gras oméga-3 et l'oméga 6, tels que l'acide alpha-linolénique (ALA). Les oméga-3 sont bénéfiques pour la santé cardiaque, la fonction cérébrale et la réduction de l'inflammation.

Elles contiennent aussi des minéraux comme le calcium, le magnésium, le fer, le phosphore, le potassium et le zinc, qui sont essentiels à de nombreuses fonctions corporelles (**Ghani et al., 2017**).

Les graines de moutarde brune comprend de différents types de stérols dont le stigmastérol, le campestérol, la bêta-sitostérol et le brassicastérol qu'est un stérol végétal ayant des effets hypocholestérolémiantes et des propriétés anti-inflammatoires et antioxydants (**Sharma et al., 2022**). Ajoutant à ça les vitamines du groupe B comme la niacine, la thiamine, et l'acide folique, ainsi que de petites quantités de vitamine C (**Parikh et Khanna, 2014**).

II- Extraction Par Micro-Onde

Le chauffage par micro-ondes d'un produit résulte de la conversion en chaleur de l'énergie d'une onde électromagnétique au sein de ce matériau (**Anizon *et al.*, 2003**). Contrairement aux techniques classiques de chauffage par conduction ou convection, l'utilisation des micro-ondes implique une interaction directe entre un rayonnement électromagnétique et la matière (**Veggi *et al.*, 2012**).

1-Définition des micro-ondes :

Les micro-ondes ou hyperfréquences sont des ondes électromagnétiques, qui possèdent un champ électrique et magnétique perpendiculaires l'un par rapport à l'autre, qui se propagent dans le vide avec des fréquences situées entre 300 MHz et 300 GHz (**Camel, 2000**). En général, les fréquences de 0,915 et 2,45 GHz sont les plus utilisées (**Lopez et Luque, 2014**).

2-Principe :

La chauffe s'effectue de l'intérieur vers l'extérieur, le réacteur contenant seulement le matériel végétal est chauffé par les micro-ondes à l'intérieur du four, les vapeurs sont ensuite entraînées dans le col de cygne avant d'être condensées dans le réfrigérant puis recueillies dans un essencier (**Lucchesi, 2006**).

Le mécanisme de chauffage par micro-ondes ou chauffage diélectrique se fait par interactions entre la composante électrique de l'onde électromagnétique et les substances (**Ghasali *et al.*, 2016**). Il procède donc par un mécanisme de polarisation dipolaire des molécules ou par conduction ionique des ions en phase liquide ou incrustés dans les interstices solides, comme le montre la figure n°04 (**Dean, 2012**).

II- Extraction Par Micro-Onde

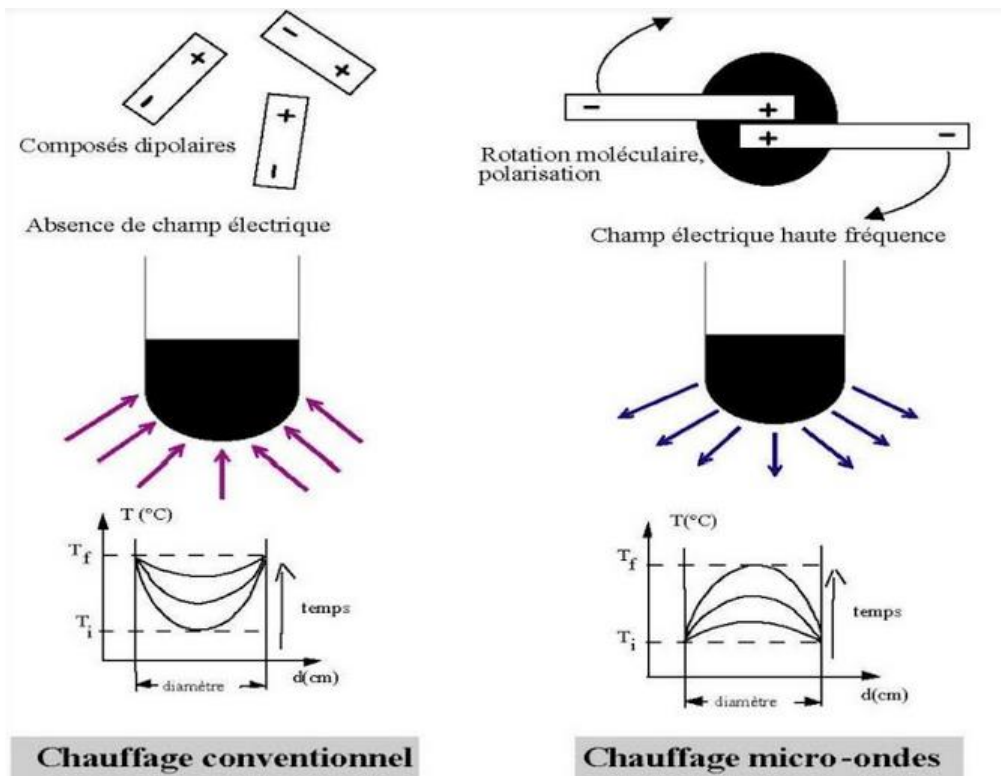


Figure 4 : Transferts thermiques sous chauffage conventionnel et micro-ondes.

2-1-Rotation dipolaire :

Une déformation des molécules est provoquée par l'application d'un champ électrique statique ou alternatif au sein d'un matériau diélectrique ainsi qu'une réorientation de ses moments dipolaires permanents en libérant une énergie thermique (figure n°05) (**Dressen, 2009**).

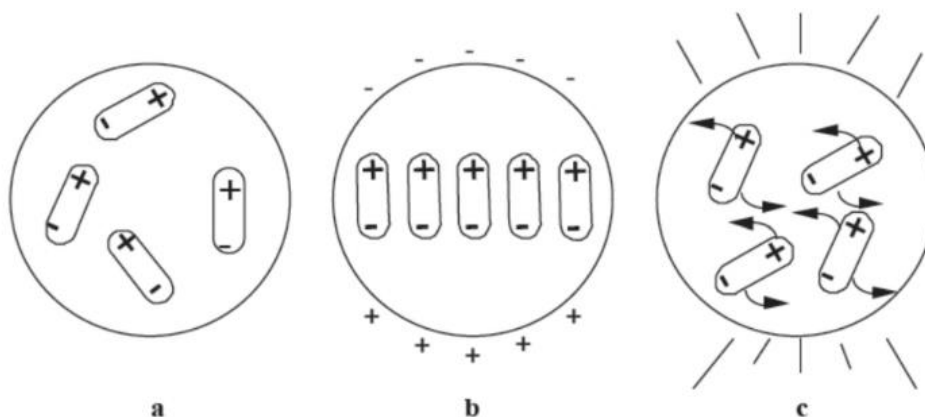


Figure 5 : Distribution des dipôles sous l'effet dans un champ électrique.

II- Extraction Par Micro-Onde

2-2- Conduction ionique :

Migration électrophorétique des ions dans un champ électromagnétique ce qui induit des frictions et libération de la chaleur par effet Joule (**Mallakpour et Raffiee, 2011**).

L'agitation moléculaire est la source principale de production de chaleur pour le chauffage par micro-ondes (**Tsubaki et al., 2016**). L'absorption de l'énergie se fait directement par la matrice, en plus elle s'échauffe rapidement. Les parois externes du récipient sont plus froides que le cœur de la solution, Cependant, la présence d'un champ électromagnétique induit des gradients de température inversés par rapport à un chauffage conventionnel (**Cendres, 2011**).

L'alignement des dipôles par rapport au champ électrique est contrarié par les forces d'interactions entre molécules (les forces de liaison par pont hydrogène et les forces de liaisons de Van der Waals (**Meredith et Metaxas, 1983**), pouvant être assimilées à des forces de frottement internes qui existent dans les contacts solide-solide. Ces forces vont s'opposer à la libre rotation des molécules et de la friction produite, naît le dégagement de chaleur (**Pearce et Roussy, 1995**).

L'extraction par micro-ondes regroupe différents procédés :

- L'extraction par solvant assistée par micro-ondes ou « MAE : microwave assisted extraction » breveté par **Paré**.
- Le « VMHD : vacuum microwave hydrodistillation » ou hydrodistillation par micro-ondes sous vide, breveté par **Archimex**.

3- Technologie du four à micro-ondes :

Trois éléments principaux constituent un four micro-ondes d'autres éléments peuvent être ajoutés et adaptés en fonction des besoins de l'expérience.

-Le magnétron (générateur) : considéré comme la base de la production d'énergie électromagnétique (**Cendres, 2011**).

- Le guide d'onde : conducteur les ondes depuis le générateur jusqu'à l'applicateur, Ses dimensions conditionnent le mode de propagation des ondes électromagnétiques (**Datta et Anantheswaran, 2001**).

- Applicateur.

4-Facteurs influençant l'extraction assistée par micro-ondes :

4-1-Puissance des micro-ondes :

L'intensité de la puissance de cet appareil appliquée est étroitement liée à une quantité d'énergie assurée à l'échantillon qui est convertie en énergie calorifique dans le matériel diélectrique en augmentant sa température (**Ma et al., 2009**). Généralement, il a été observé qu'on augmentant la puissance du micro-onde le rendement de l'extraction augmente (**Nemes et Orsat, 2009**).

4-2-Temps d'extraction :

Quand le temps d'extraction change le rendement de l'extraction change (**Wang et Weller, 2006**). La durée de l'extraction est fonction de la puissance de micro-onde qui doit être toujours optimisée. Il faut savoir que le temps d'extraction optimum varie avec la nature du solvant. Une application des temps prolongés, cherchant à maximiser le taux de rendement, peuvent occasionner la dégradation des produits (**Bagade et Patil, 2021**).

4-3- Température :

La température affecte directement la cinétique du transfert de masse du solide vers le solvant ceux qui veut dire l'efficacité de l'extraction. La température est principalement liée au solvant à la matrice et à la puissance de micro-onde (**Camel, 2000**). L'élévation de la température augmente la solubilité et la diffusivité de la solution et réduit sa viscosité. La température opératoire est limitée par les risques de dégradation thermique des produits finis (**Garnero, 1996**).

4-4- Nature et choix du solvant :

Selon **Zhu et al., (2006)**, les solvants les plus utilisés dans l'extraction par solvants sous micro-ondes sont l'hexane, le toluène, le tétrachlorure de carbone, le dichlorométhane et l'éthanol. Si le solvant est transparent aux micro-ondes c'est-à-dire s'il possède une permittivité faible, c'est le matériel végétal qui captera directement le rayonnement micro-ondes (**Kaufmann et Christen, 2002**).

En revanche, si le solvant absorbe les micro-ondes, le chauffage sera plutôt un chauffage de type conducteur : les micro-ondes vont permettre le chauffage du solvant et ce dernier par conduction chauffera le matériel végétal (**Lucchesi et al., 2007**). Le choix du solvant va donc

II- Extraction Par Micro-Onde

déterminer le type de chauffage et par conséquent le mécanisme d'extraction et la composition du produit final.

5-Avantages et inconvénients de l'extraction par micro-ondes :

L'extraction assistée par micro-ondes offre plusieurs avantages par rapport aux techniques plus traditionnelles ; C'est une technique rapide (un court temps d'extraction), économique (utilisation moindre de solvant), thermiquement non dangereuse avec un rendement d'extraction élevé (**Zhang *et al.*, 2011**), mais cela n'empêche pas le fait qu'elle a quelques inconvénients ; coûts d'investissement plus élevés une dégradation possible des matières thermosensibles (**Mandal *et al.*, 2007**).

III- Plan D'expériences

Un plan d'expériences est une suite d'essais organisée à l'avance de manière à déterminer en un minimum d'essais et avec un maximum de précision l'influence de multiples paramètres sur une ou plusieurs réponses (**Miller et al., 2020**).

Le plan d'expériences sert à mettre en évidence et à quantifier l'influence des paramètres pris en compte. Faut mettre en œuvre une série d'essais physiques ou une série de calculs numériques. C'est souvent le cas dans les contextes d'études techniques, d'optimisation de processus, des études de moyens de fabrication et d'essais de laboratoire (**Berger et al., 2017**).

Selon **Duret (2013)** un plan d'expériences permet de mettre en place une méthodologie de manière à être plus rigoureux, et d'organiser les essais.

Différents plans d'expériences existent dont chacun présente un certain nombre d'avantages et de défauts. Certains permettent de limiter le nombre d'essais, d'autres sont exhaustifs, ou adaptés à des conditions particulières. La méthodologie des plans d'expériences possède un vocabulaire qui lui est propre (**Yang et al., 2023**).

Les facteurs sont l'ensemble des paramètres expérimentaux contrôlables qui influencent un ou des critères caractéristiques du phénomène étudié qui sont appelés réponses (**Hanrahan et Lu, 2006**).

Une réponse est une grandeur physique mesurable. Les interactions sont les effets conjugués entre plusieurs facteurs (par exemple les effets synergiques entre plusieurs facteurs) (**Maddah et al., 2018**).

1-Principe :

D'après **Vivier et al.,(2005)** un plan d'expériences permet d'analyser un phénomène de manière méthodique. La manière traditionnelle d'étudier un phénomène dépendant de plusieurs facteurs expérimentaux est de faire varier un facteur en fixant tous les autres. Cette manière de procéder suit un plan d'expériences particulier, où les interactions ne sont pas prises en comptes.

La première étape d'un plan d'expériences consiste à collecter un maximum d'informations sur le phénomène étudié (**Thyer, 2013**).

Selon **Murray et Goupy, (1991)**, l'analyse des plans d'expériences passe par l'utilisation de variables centrées réduites pour désigner les différents niveaux des facteurs, qui sont centrées sur 0, et elles sont réduites à l'intervalle $[-1, +1]$.

III- Plan D'expériences

L'utilisation de variables centrées réduites permet une meilleure comparaison, car les différences de domaine entre les facteurs sont éliminées.

La notion de domaine expérimental est importante dans la théorie des plans d'expériences.

Pour un nombre maximal de trois facteurs, l'ensemble des essais peut être représenté graphiquement dans un repère à trois dimensions pour trois facteurs, et deux dimensions pour deux facteurs (Lucke *et al.*, 2019).

La notion d'interaction intervient dans les plans d'expériences, car l'étude de l'effet d'un facteur en fonction du niveau des autres facteurs est possible.

Un modèle mathématique est associé aux différents plans d'expériences le plus souvent sous la forme d'un polynôme à plusieurs variables, qui sont prises par les niveaux des différents facteurs étudiés (Tang et Zhang, 2013).

Les coefficients de chaque terme sont la valeur prise par les différents effets. Le terme constant qui est la moyenne de l'ensemble des réponses du plan d'expériences (β_0), le terme des effets principaux ($\sum_{i=0}^k \beta_i x_i$), les termes des effets d'interactions ($\sum_{i,j=0}^k \beta_{ij} x_i x_j$), les termes des effets quadratiques ou supérieurs pour un polynôme du second degré ou plus ($\sum_{i=0}^k \beta_{ii} x_i^2$), selon l'équation suivante :

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

β_i est le coefficient des effets principaux, β_{ij} est le coefficient des effets d'interactions, β_{ii} est le coefficient des effets quadratiques. x_i est le niveau pris par le facteur i , x_j est le niveau pris par le facteur j (Duret, 2013).

2-Types de plan :

Selon Cash *et al.*, (2016), il existe plusieurs types de plans d'expériences en fonction de temps, budget financier de l'étude, et surtout des objectifs.

Les principaux sont les plans factoriels complets, les plans de criblage (screening), les plans factoriels fractionnaires, les plans pour surface de réponse (MSR ou plans d'optimisation) et les plans de mélange.

3-Intérêt et objectifs de l'utilisation de plan d'expériences :

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y , et des variables, x_i est recherché (**Telen et al., 2012**).

Selon **Cunningham et Wallraven, (2011)** la compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles :

-Celle d'espace expérimental et celle de modélisation mathématique des grandeurs étudiées.

L'objectif de l'utilisation des plans est la comparaison d'alternatives, criblage, modélisation, prédiction, optimisation et optimisation multi réponses (**Berger et al., 2017**).

4-Avantages :

Les plans d'expériences présentent trois principaux avantages :

- Précision des effets estimés (démarche primordiale à effectuer en premier lieu),
- L'équilibre du plan (orthogonalité du plan)
- Interaction entre les facteurs (**Sarotti, 2007**).

Il est toujours préférable d'effectuer un plan d'expériences que d'étudier chaque facteur à la suite de l'autre.

1-Matériel végétal :

Le son de moutarde utilisé dans la présente étude provient de l'entreprise agroalimentaire Cevital ligne El Kseur (Béjaia) récupéré lors de la transformation de la moutarde de Dijon (Annexe 1).

Après un séchage à l'étuve à 50°C pendant 4 à 5 jours, le son de la moutarde a été broyé puis tamisée (tamis 250µm). La poudre récupérée a été conservée à l'abri de la lumière et à une température ambiante dans un milieu non humide (figure n°06)



Figure 6 : Photographie de poudre de son de moutarde tamisé.

1-1- Réactifs :

Les composés 1,1-diphényl 1-picrylhydrazyle (DPPH), carbonate de sodium, 3-éthylbenzothiazoline-6-sulphonique (ABTS), chlorure ferrique $FeCl_3$, ferricyanure de potassium, Persulfate de potassium, ammonium molybdate, phosphate de sodium, chlorure ferreux $FeCl_2$, ferozine, alpha amylase, albumine de sérum bovin, réactif acide et Folin-Ciocalteu phénol ont été achetés chez Sigma-Aldrich (Allemagne). Tous les solvants utilisés étaient de qualité analytique et achetés chez Prolabo (CE).

2-Etude préliminaire :

Pour l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques du son de la moutarde par micro-onde l'influence de 04 paramètres différents a été étudiée dont la concentration du solvant (l'éthanol), le temps d'extraction, la puissance du micro-onde et le ratio dans des expériences à un seul facteur pour limiter le travail expérimental.

IV- Matériels Et Méthodes

L'étude préliminaire a été faite en variant chaque paramètre, à chaque variation la valeur qui donne le meilleur rendement en composés phénoliques totaux a été sélectionné pour pouvoir procéder au paramètre suivant comme suit :

a-La concentration d'éthanol à : 20%, 40%, 60%, 80% et 100%.

b-La puissance : 100W, 200W, 300W, 500W, 700W et 900W.

c-Le temps: 30s, 60s, 90s, 120s, 150s, 180s, 210s, 240s, 270s, 300s, 330s et 360s.

d-Le ratio : 10ml/g, 20ml/g, 30ml/g, 40ml/g et 50ml/g.

Les valeurs fixées pour la concentration d'éthanol, la puissance, le temps et le ratio étaient respectivement : **60 %**, **500 W**, **210 s**, **20 ml/g**.

La méthodologie de surface de réponse (MSR) a été utilisée pour déterminer les conditions optimales d'extraction.

Le choix de l'éthanol en tant que solvant d'extraction est due à ses différents avantages ; un solvant polaire, non toxique et moins chère.

3-Plan d'expériences :

3-1-Procédure d'extraction :

L'appareil d'extraction utilisé est un micro-ondes modifié au niveau de laboratoire (MW8123ST ; Samsung, Selangor, Malaysia) de puissance qui peut aller de 100 à 900 W.

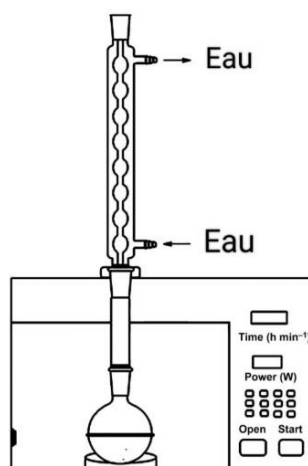


Figure 7 : Schéma d'équipement micro-ondes (Guemghar et al., 2014).

L'étape d'extraction réalisée est résumée dans le schéma de la figure n°8 :

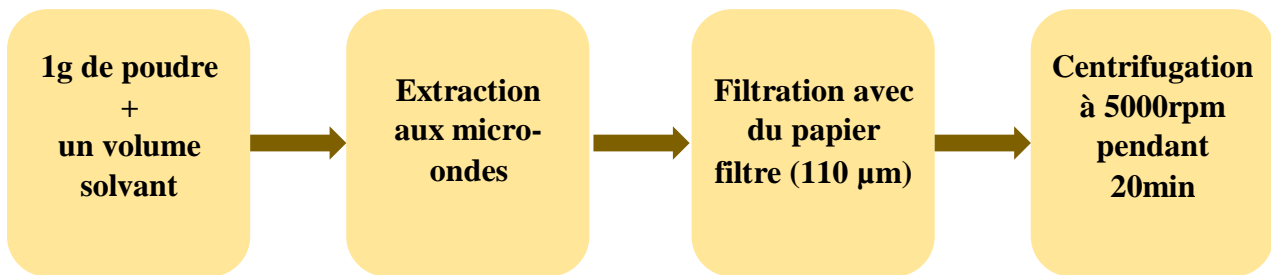


Figure 8 : Protocole final de l'extraction par micro-ondes.

Après l'étude préliminaire les niveaux de facteurs ont été fixés et un plan composite centré réduit a été construit avec trois facteurs (concentration d'éthanol, puissance d'extraction, temps d'extraction).

3-2-Plan d'expériences :

Le plan composite centré a été utilisé pour cerner les effets des trois variables indépendantes (le temps, la puissance et concentration solvant) à deux niveaux sur la variable dépendante (teneur en composés phénoliques totaux (CPT), il utilise la méthode de la régression des moindres carrés pour adapter les données à un modèle quadratique.

Le logiciel statistique utilisé pour l'analyse de plan composite centré est le **Design-Expert** ; un logiciel spécialisé dans la conception et l'analyse des expériences. Il offre des fonctionnalités avancées pour la création de plans d'expériences, y compris les plans composites centrés, et l'analyse des surfaces de réponse.

Le modèle quadratique de chaque réponse est comme suit :

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_{ii} X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j + \varepsilon$$

Dont :

Y est la réponse prédite, β_0 une constante, β_i le coefficient linéaire, β_{ii} le coefficient quadrique, β_{ij} coefficient d'interaction des variable i et j , X_i et X_j variables indépendantes, ε l'erreur résiduelle.

Le Software utilise ce modèle quadratique pour construire les surfaces de réponses. Le modèle adéquat a été déterminé par l'évaluation du manque d'ajustement, du coefficient de détermination R^2 et la valeur du test de Fisher (valeur de F) obtenus de l'analyse de la variance

IV- Matériels Et Méthodes

(ANOVA) qui a été générée par le software. La signification du modèle et les paramètres du modèle ont été déterminés à un niveau de probabilité de 5% ($p=0.05$).

Les diagrammes de surface de réponse tridimensionnelle ont été générés en gardant une variable de réponse à son niveau optimal et en traçant cela contre deux facteurs (variables indépendantes).

4-Dosage des composés phénoliques :

Le contenu en CPT a été déterminé par la méthode de Folin Ciocalteu selon le protocole décrit par **Velioglu *et al.*, (1998)** avec des modifications non considérables.

Un volume de **1ml** du **Folin Ciocalteu dilué 10 fois** est ajouté à **0,2 ml** de l'**extrait** (après extraction). Après 5mn, **1ml** de **carbonate de sodium 6%** a été ajouté au mélange réactionnel, incubé pendant 1h à l'abri de la lumière à une température ambiante accompagné d'un témoin ou l'extrait a été remplacé par l'eau distillé.

Après incubation, l'absorbance a été mesuré à une longueur d'onde de 760nm.

L'acide gallique a été utilisé comme standard pour l'élaboration de la courbe d'étalonnage (Annexes 2).

5- Préparation des extraits secs :

Les extraits obtenus dans les conditions optimales ont été mis dans des boîtes pétries puis séchés dans une étuve à 50°C pendant 24h.

Une pesée avant et après séchage des solutions d'extrait dans les boîtes pétries se fait pour déterminer le rendement.

Le rendement de l'extraction est le rapport entre le poids de l'extrait et le poids de la plante à traiter, il est exprimé en pourcentage et calculé par la formule suivante :

$$\text{Rendement en (\%)} = (\text{PE/PA}) \times 100$$

Dont :

R : rendement de l'extrait en pourcentage.

PE : poids de l'extrait en gramme.

IV- Matériels Et Méthodes

PA : poids de la plante sèche en gramme.



Figure 9 : Photographie de l'extrait après séchage.

6- Activité antioxydante :

6-1- Effet « scavenger » sur le radical DPPH :

L'effet « scavenger » sur le radical DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) a été mesuré par la méthode rapporté par **Haddadi-Guemghar *et al.*, (2014)**.

Un volume de 0,5 ml d'extrait à différentes concentrations (**C1** = 0,2 ; **C2** = 0,4 ; **C3** = 0,6 ; **C4** = 0,8 ; **C5** = 1) est mélangé avec un volume de 1,5 ml du DPPH, le mélange est incubé pendant 30 min à l'obscurité.

L'absorbance des solutions est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 515 nm.

Le Trolox (équivalent hydrosoluble de l'α-tocophérol) a été utilisé comme standard, en remplaçant l'extrait par ce dernier.

L'activité scavenger sur le radical DPPH pour chaque échantillon a été calculée suivant l'équation suivante :

$$\text{Activité scavenger (\%)} = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

IV- Matériels Et Méthodes

AC : absorbance du contrôle.

AE : absorbance d'extrait / Trolox.

6-2- Effet « scavenger » sur le radical ABTS :

La méthode de radicale ABTS est l'un des tests les plus utilisés pour la détermination de la concentration des radicaux libres. Il est basé sur la neutralisation d'un radical - cation résultant de la mono électronique oxydation du chromophore synthétique 2,2'- azino-bis (3 - éthylbenzothiazoline -6- sulfonique acide) (ABTS), le protocole suivie est celui décrit par **Djeridane et al., (2006)**.

Le radical cation ABTS est généré en mélangeant à un volume de persulfate de potassium **K₂S₂O₈**, une solution mère d'**ABTS**, le tout est conservé à l'abri de la lumière et à une température ambiante durant 16h avant son utilisation.

Un volume de 1,8ml de la solution ABTS préparée a été ajouté à 0,2ml d'extrait à différentes concentrations (**C1** = 0,2 ; **C2** = 0,4 ; **C3** = 0,6 ; **C4** = 0,8 ; **C5** = 1) et la lecture est faite à 734 nm après 30 min d'incubation. Le contrôle : 1,8ml d'ABTS + 0,2ml d'éthanol pur (solvant d'extraction).

Le pourcentage d'inhibition est calculé selon la formule suivante :

$$\text{Pourcentage inhibition (\%)} = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

AC : absorbance du contrôle.

AE : absorbance d'extrait.

6-3- Pouvoir réducteur :

Dans le test du pouvoir réducteur, les antioxydants présents dans les extraits entraînent la réduction du complexe Fe³⁺/ferricyanure de potassium de couleur jaune en fer ferreux qui se traduit par une coloration bleue verdâtre dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur.

Un volume de 0,5 ml d'extrait est additionné de 1,25 ml de tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et de 1,25 ml de ferricyanure de potassium (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 mn. Un volume de 1,25 ml d'acide trichloracétique TCA (10%) est ajouté au mélange.

IV- Matériels Et Méthodes

Dans un tube à essai, sont mélangés 1 ml du mélange précédent, 1 ml d'eau distillée et 0,2 ml de chlorure ferrique FeCl_3 (0,1%).

L'absorbance est mesurée à 700 nm. Une augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel indique une augmentation du pouvoir réducteur (Liu *et al.*, 2008).

6-4- Activité antioxydante totale :

L'activité antioxydante totale est évaluée par la méthode décrite par Sethiya *et al.*, (2014).

Un volume de 0,2ml d'extrait à différentes concentration ($\text{C1} = 0,2$; $\text{C2} = 0,4$; $\text{C3} = 0,6$; $\text{C4} = 0,8$; $\text{C5} = 1$) a été ajouté à 2ml de la solution réactive (0,6M d'acide sulfurique, 28Mm phosphate de sodium, 4Mm ammonium molybdate). Le mélange est incubé dans un bain marie à 90°C pendant 90min.

L'absorbance est mesurée à 695nm.

6-5- Chélation des ions de fer ferreux :

Le pouvoir chélateur du fer ferreux par les extraits du son de la moutarde a été réalisé par la méthode impliquant la ferozine décrite par Li *et al.*, (2007).

Un volume de 1,5ml d'eau distillé et 0,1ml de FeCl_2 respectivement sont ajoutés à un volume de 0,5ml de la solution d'extrait à différentes concentrations ($\text{C1} = 0,2$; $\text{C2} = 0,4$; $\text{C3} = 0,6$; $\text{C4} = 0,8$; $\text{C5} = 1$), le mélange est incubé pendant 5min, puis un volume de 0,2ml de la solution de ferozine est ajouté après 10min une lecture à 562nm se fait à l'aide d'un spectrophotomètre.

L'EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique) est utilisé comme référent ; c'est un fort chélateur, il capte les ions métalliques affectants la stabilité et/ou l'aspect des produits.

La capacité de chélation de fer est déterminée avec la formule suivante :

$$\text{Pourcentage de chélation de fer (\%)} = \frac{\text{AC} - \text{AE}}{\text{AC}} \times 100$$

AC : absorbance du contrôle.

AE : absorbance d'extrait.

7- Activité anti-inflammatoire *in vitro* :

L'activité anti-inflammatoire a été évaluée par le test impliquant la dénaturation des protéines qui est cause d'inflammation. L'inhibition de la dénaturation protéique a été réalisée selon la méthode de **kar et al., (2012)**

La solution de contrôle négatif : un volume de 0,45 ml de BSA à 5% ajouté à 0,05 ml d'eau distillée.

La solution standard : un volume de 0,45 ml de BSA à 5% ajouté à 0,05 ml de l'indométacine.

La solution d'essai : un volume de 0,45 ml de BSA à 5% ajouté à 0,05 ml d'extrait.

La solution d'extrait est faite en mélangeant une quantité d'extrait avec un volume de DMSO 80% (Diméthylsulfoxyde) et/ou l'éthanol 60% et 3 dilutions sont préparées à différentes concentrations de 1mg/1ml – 0,5 – 0,25 respectivement.

Les échantillons ont été incubés dans un bain marie à 37°C pendant 20 min ensuite à 57 °C pendant 3 min. Après refroidissement un volume de 2,5 ml de la solution tampon phosphate à pH 6,4 a été ajoutée.

L'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV visible à 660 nm.

Le pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique a été calculé comme suit :

$$\text{Le pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

AC : absorbance du contrôle négatif.

AE : absorbance d'extrait / indométacine.

8- Activité anti-diabétique *in vitro* :

L'activité antidiabétique a été évaluée par la méthode *in vitro* d'inhibition de l' α -amylase décrite par la méthode de **Ali et al., (2020)**.

Les mélanges d'échantillons ont été préparés en mélangeant 0,5 mL de l'extrait avec 0,5 mL de tampon phosphate de sodium 0,02 M (pH 6,9 avec 0,006 M NaCl) contenant de l' α -amylase. La solution d'amylase (0,5 mg/mL) est incubée à température ambiante pendant 10 minutes. Le mélange a été mélangé avec 0,5 ml de solution d'amidon à 1 % dans un tampon

IV- Matériels Et Méthodes

phosphate sodique 0,02 M et incubé pour la seconde fois à température ambiante pendant 10 minutes. Après avoir ajouté 1 ml de réactif coloré à l'acide dinitrosalicylique le mélange a été porté à ébullition au bain-marie pendant 10 minutes et refroidi à la température ambiante. Le mélange a été dilué en ajoutant 15 ml d'eau.

L'absorbance du mélange dilué résultant a été lue à 540 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. L'essai sans la solution d'extrait a servi de contrôle.

Tous les résultats sont exprimés en %.

$$\text{Pourcentage d'inhibition (\%)} = \frac{AC - AE}{AC} \times 100$$

AC : absorbance du contrôle.

AE : absorbance d'extrait / Acarbose.

9-Analyse statistique :

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft office Excel 2016, afin de déterminer les moyennes et l'écart types.

Les résultats sont analysés par STATISTICA 8.0, basé sur l'analyse de la variance (ANOVA). D'autres parts, les résultats expérimentaux du plan d'expérience sont analysés par le logiciel The DESIGN EXPERT software version 8.0.1 Stat-Ease, Minneapolis, MN, USA et JMP version 7.0, SAS.

Le degré de signification des données est pris à la probabilité $p < 0,0$

V- Résultats et discussion

1-Optimisation de la procédure d'extraction assistée par micro-ondes :

L'efficacité d'extraction du procédé à micro-ondes a été estimée en mesurant les teneurs en CPT (composés phénoliques totaux) de l'extrait de son des graines de moutarde brune. Un modèle polynomial de second ordre a été généré avec des conditions opérationnelles : concentration de solvant A, puissance d'extraction B et temps d'extraction C.

Pour l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques, 20 essais ont été réalisés selon le plan composite centré (tableau n°2).

Tableau 2 : Plan expérimental de l'optimisation de l'extraction assistée par micro-ondes des CPT (exprimé en mg d'équivalent d'acide gallique/100g de poudre sèche) à partir de son des graines de moutarde brune.

Concentration d'éthanol (%)	Puissance (w)	Temps d'extraction (min)	Valeurs expérimentales	Valeurs prédites
60	500	180	1823,7	1833,0
80	800	90	1412,6	1418,1
60	200	180	1712,3	1686,6
60	500	180	1852,3	1833,0
60	500	180	1802,1	1833,0
80	200	270	1302,3	1314,3
40	800	90	1212,3	1202,3
40	200	270	1402,4	1398,9
80	200	90	1386,9	1384,2
60	500	180	1795,4	1833,0
40	500	180	1664,5	1653,5
60	800	180	1725,4	1743,3
60	500	180	1883,4	1833,0
40	200	90	1423,2	1443,1
40	800	270	1473,8	1478,4
80	500	180	1715,9	1719,1
60	500	90	1639,2	1626,5
80	800	270	1686,5	1668,5
60	500	270	1724,7	1729,6
60	500	180	1825,4	1833,0

1-1- Ajustement du modèle :

Les résultats de l'analyse de la variance (ANOVA) pour le modèle polynomial quadratique ajusté pour la performance CPT sont présentés dans le tableau n°3. Le test F suggère que le modèle a une valeur F très élevée et une valeur p très faible ($p < 0,0001$), ce qui

V- Résultats et discussion

indique qu'il est très significatif. Le manque d'ajustement est une mesure de l'échec du modèle à représenter adéquatement les données expérimentales aux points non inclus dans la régression. La valeur p de l'absence d'ajustement était supérieure à 0,05 ce qui indique qu'elle n'était pas statistiquement significative par rapport à l'erreur pure et que l'équation du modèle était adaptée à la prédiction des performances du CPT pour toute combinaison de valeurs de variables.

Tableau 3 : ANOVA pour l'effet de la concentration d'éthanol, de la puissance et du temps d'extraction sur le rendement en CPT.

Source	Somme des carrés	Df	Carré des moyennes	Valeur F	Valeur p Prob >F	
Modèle	7,804E+005	9	86706,82	108,79	<0,0001	significatif
Concentration d'éthanol (A)	10758,40	1	10758,40	13,50	0,0043	
Puissance de micro-ondes (B)	8054,24	1	8054,24	10,11	0,0098	
Temps d'extraction (C)	26574,02	1	26574,02	33,34	0,0002	
AB	37730,05	1	37730,05	47,34	<0,0001	
AC	330,24	1	330,24	0,41	0,5342	
BC	51328,08	1	51328,08	64,40	<0,0001	
A²	59065,15	1	59065,15	74,11	<0,0001	
B²	38131,87	1	38131,87	47,85	<0,0001	
C²	65902,23	1	65902,23	82,69	<0,0001	
Résiduel	7969,84	10	796,98			
Manque d'ajustement	2375,54	5	475,11	0,42	0,8156	Non significatif
Cor total	7,883E+005	19				

Plusieurs analyses statistiques descriptives, dont le coefficient de détermination (R^2), le coefficient de détermination ajusté ($AdjR^2$), le coefficient de détermination prédit ($Pred. R^2$), la précision appropriée (Adeq Precision) et le coefficient de variation (CV), ont été utilisées pour évaluer la qualité de l'ajustement du modèle (Tableau n°4).

La valeur R^2 était de 0,9899, ce qui indique que la variation de l'échantillon était statistiquement significative à 98,99% et que le modèle ne pouvait rendre compte

V- Résultats et discussion

qu'approximativement de 1,01% de la variance globale. En d'autres termes, un coefficient de détermination proche de 1 indique un degré élevé de corrélation entre les données observées et prédites (Figure n°9). Les scores CPT Adj R² (0,9808) et Pred R² (0,9538) étaient également satisfaisants, démontrant la signification du modèle. Le Pred R² et le AdjR² étaient raisonnables proche l'un pour l'autre, avec une différence de 0,027 entre les deux paramètres qui est inférieure à 0,10. Le degré de dispersion des données est décrit par le coefficient de variation (CV). En général, une faible valeur de CV entraîne une meilleure reproductibilité, tandis qu'une valeur de CV élevée dénote une forte variance de la valeur moyenne et l'incapacité à développer un modèle de réponse approprié.

En général, le CV ne devrait pas être supérieur à 10% et dans le cas de cette étude le CV était dans une fourchette acceptable (1,74%) (Liyanapathirana et Shahidi, 2005).

Tableau 4 : Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle.

Std Dev	28,23	R-carrés	0,9899
Moyenne	1623,09	R-carré ajusté	0,9808
CV%	1,74	R-carré prédictif	0,9538
Adeq précision	31,574		

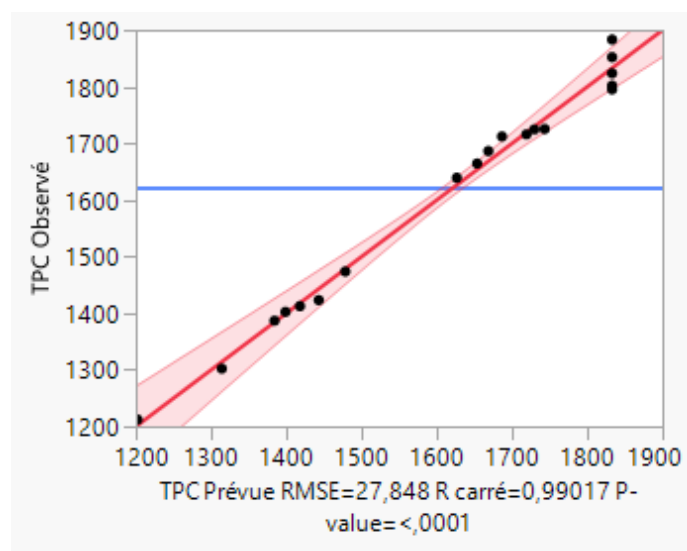


Figure 10 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites.

1-2- Signification des variables :

La signification de chaque coefficient a été déterminée à l'aide de la valeur p cette valeur est utilisée comme outil pour évaluer la signification de chaque coefficient et la force des interactions entre chaque variable indépendante. Une valeur de p inférieure à 0,05 indique que les termes du modèle sont significatifs. Dans ce cas, les principaux facteurs affectant l'extraction des CPT étaient la concentration du solvant, le terme quadratique du temps d'extraction, l'interaction temps puissance, le temps d'extraction et en dernier le terme quadratique de la puissance d'extraction.

Après avoir négligé tous les termes non significatifs ($p > 0,05$), le modèle quadratique ajusté pour le CPT dans les variables codées sont donnés dans l'équation suivante :

$$\text{CPT} = +1832,64 + 32,80*A + 28,38*B + 51,55*C + 68,68*AB - 6,42*AC + 80,10*BC - 146,55*A^2 - 117,75*B^2 - 154,80*C^2 \text{ (Équation 1)}$$

1-3- Analyse de la surface de réponse :

La surface de réponse 3D est la représentation graphique d'une équation de régression. Il fournit une méthode pour visualiser la relation entre les réponses et les niveaux expérimentaux de chaque variable et le type d'interactions entre deux variables de test (**Yolmeh & Jafari, 2017**). Les graphiques ont été générés en traçant la réponse en utilisant l'axe z contre deux variables indépendantes tout en gardant l'autre variable indépendante au niveau zéro (**Ouatmani et al., 2021**).

La figure n°11 est un graphique de surface de réponse montrant l'interaction entre la concentration d'éthanol et la puissance d'extraction sur le rendement en CPT en maintenant le temps d'extraction constant. En augmentant la concentration d'éthanol et la puissance d'extraction dans le domaine expérimental choisi.

Le rendement d'extraction augmente jusqu'à environ 1750 mg EAG/100g avec la concentration en éthanol de 80%. Par contre, le rendement CPT augmente de 1490 mg EAG /100g avec l'augmentation de la puissance de 200 W à 500 W, Au-delà de cette puissance le rendement en CPT diminue et arrive à 1490 mg EAG/100g d'extrait de son des graines de moutarde brunes avec l'augmentation de la puissance à 800W.

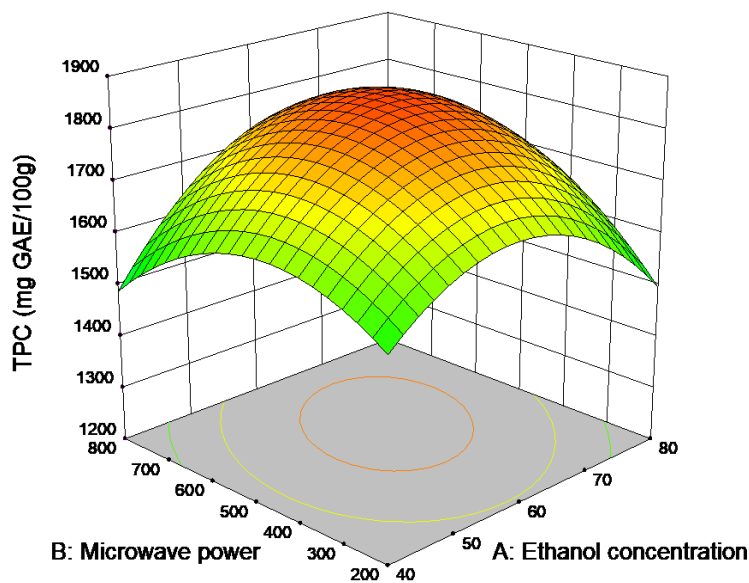


Figure 11 : Courbe 3D de l'effet d'interaction de paramètres de concentration d'éthanol et de la puissance sur le rendement en CPT.

La figure n°12 est un graphique de surface de réponse indiquant qu'en augmentant la concentration en éthanol et en prolongeant le temps, le rendement d'extraction (CPT) augmente progressivement pour atteindre son maximum 1750 mg EAG/100g de l'extrait de son des graines de moutarde brunes, impliquant une augmentation du rendement d'extraction en CPT de $\pm 2,30\%$ sur le rendement en CPT.

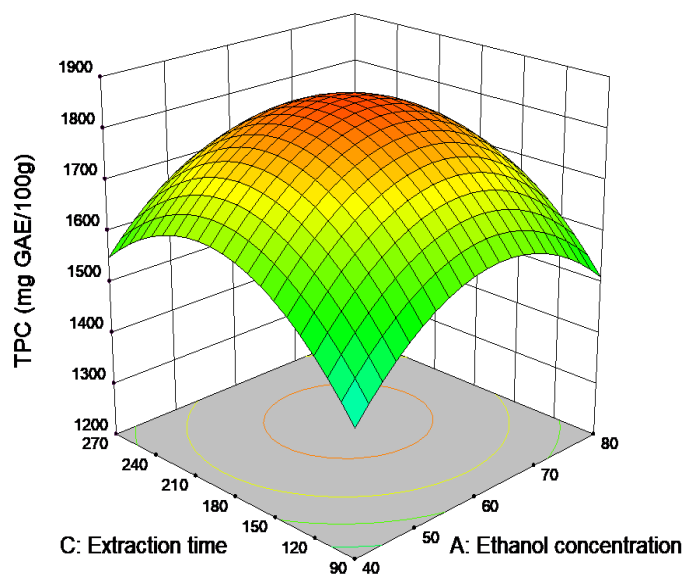


Figure 12 : Courbe 3D de l'effet d'interaction de paramètres de concentration d'éthanol et de temps d'extraction sur le rendement en CPT.

V- Résultats et discussion

La figure N°13 montre l'effet de la puissance et le temps d'extraction sur la quantité en CPT. Le rendement en CPT augmente avec le prolongement du temps d'extraction jusqu'à atteindre une valeur de 1750 mg EAG/100g de l'extrait de son des graines de moutarde brunes à 200 secondes.

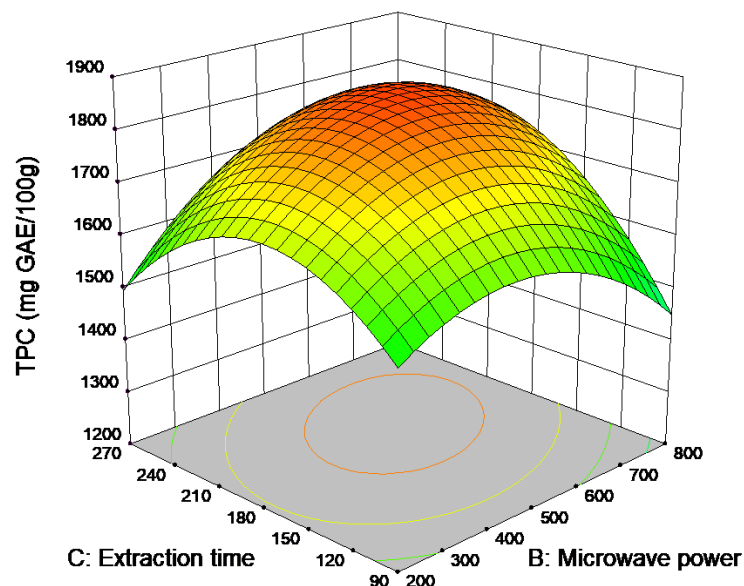


Figure 13 : Courbe 3D de l'effet d'interaction de paramètres de la puissance et de temps d'extraction sur le rendement en CPT.

2-Conditions d'extraction optimale :

En utilisant un modèle quadratique pour décrire l'expérience, trois variables expérimentales pour une extraction maximale des composés phénoliques des extraits de son de graines de moutarde brunes ont été optimisées.

L'optimisation à l'aide de la fonction de désirabilité (Figure n°14) a indiqué que les conditions optimales pour l'extraction des composés phénoliques avec une désirabilité de 0,905 étaient les suivantes : Solvant d'extraction : éthanol 60%, puissance d'extraction : 500W, Temps d'extraction : 200s (3,30min).

V- Résultats et discussion

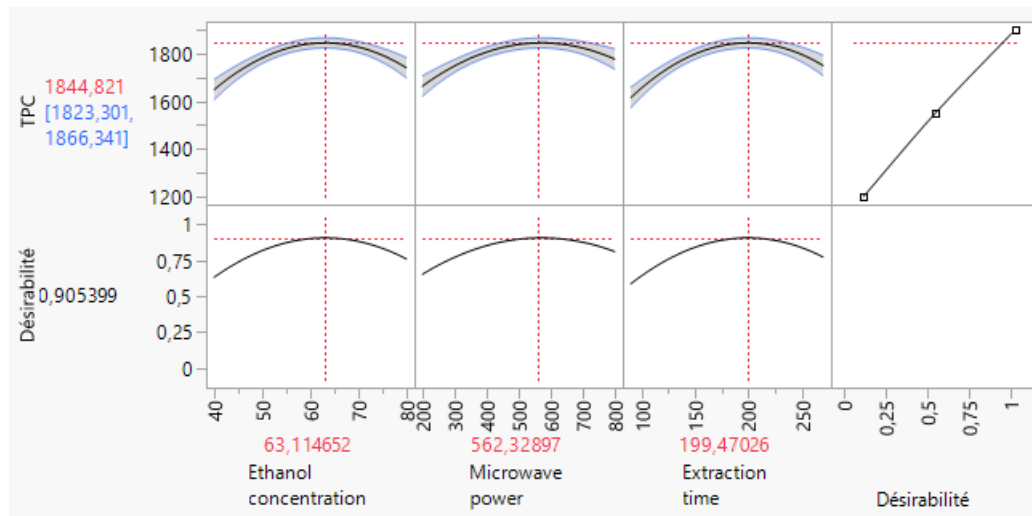


Figure 14 : Profils des valeurs prédites et de la fonction de désirabilité.

3-Validation du modèle :

Les conditions optimisées obtenues par la méthode de surface de réponse ont été utilisées pour valider le modèle prophétique d'extraction des CPT à partir de son des graines de moutarde brunes. Le tableau n°05 montre que les valeurs expérimentales sont raisonnablement proches des valeurs prévues confirmant la validité et l'adéquation du modèle prévu. Il n'existe pas une différence significative entre la valeur prédite et la valeur expérimentale.

Tableau 5 : Conditions optimales pour l'extraction des CPT (mg EAG/g) de l'extrait de son des graines de moutarde brunes.

	Concentration d'éthanol (%)	Puissance (W)	Temps d'extraction (min)	Valeur prédite (mgEA G/100g)	Valeur expérimentale (mgEAG/100g)
CPT (mgEAG/100g)	60	500	3,30	1844,82	449,25±21,19

4- Activité anti-oxydante :

Pour obtenir une évaluation plus complète des propriétés antioxydantes cinq tests complémentaires mettant en jeu différents mécanismes antioxydants (DPPH, ABTS, Pouvoir réducteur, activité antioxydante totale et chélation du fer ferreux) ont été réalisés :

4-1- Effet « scavenger » sur le radical DPPH :

Le radical DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un composé utilisé en chimie pour évaluer l'activité antioxydante des substances. Il s'agit d'un radical libre stable de couleur violet foncé. Il réagit avec les antioxydants pour former un composé stable non radicalaire. En ajoutant un échantillon à une solution de radical DPPH, on peut observer une diminution de l'intensité de couleur violette, ce qui indique la réduction du radical DPPH par l'activité antioxydante du composé testé.

L'activité anti-radicalaire de l'extrait de son des graines de moutarde brune a été importante ; pour l'inhibition de 85,53 % du radical DPPH nécessite 1 mg/ml. La figure n°15 montre que l'effet « scavenger » sur les radicaux DPPH augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait et du Trolox (acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2, 5, 7,8 tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique) qui est un composé chimique dérivé de la vitamine E. Sa structure chimique est similaire à celle de l'alpha-tocophérol, une forme naturelle de vitamine E. Son rôle principal est de protéger les cellules et les tissus contre les dommages causés par les radicaux libres et les espèces réactives de l'oxygène. Utilisé couramment en tant qu'antioxydant dans les études expérimentales, pour évaluer l'activité antioxydante d'autres composés ou extraits naturels. Il peut également être utilisé pour stabiliser les molécules sensibles à l'oxydation lors d'expériences de laboratoire. Des études ont montré que les graines de moutarde brunes présentent une capacité antioxydante significative (Dubie *et al.*, 2013).

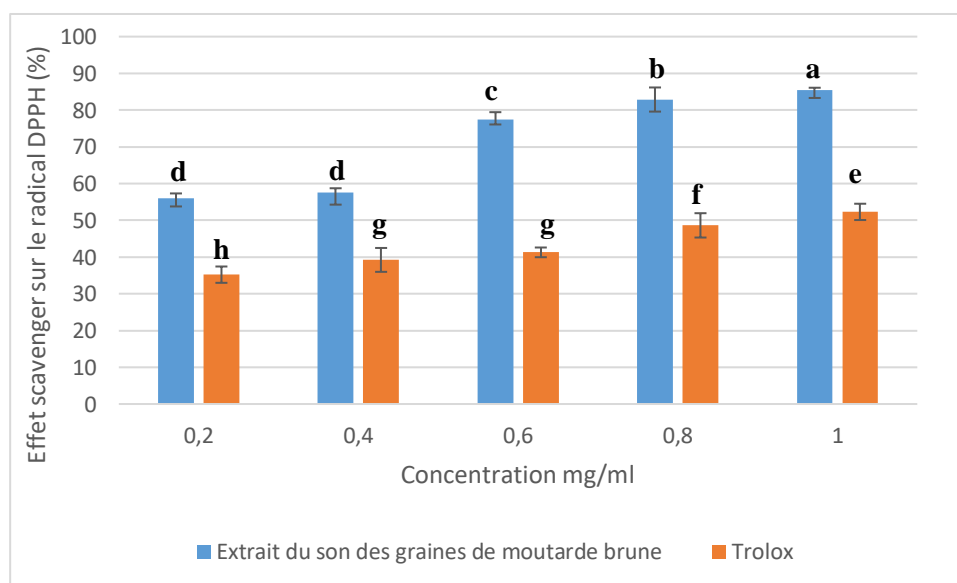


Figure 15 : Pourcentage de pouvoir scavenger du radical DPPH de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune comparé avec le trolox.

V- Résultats et discussion

● La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e > f > g > h$ et les barres verticales représentent les écarts types (nombre d'essais=3).

4-2- Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur est un test couramment utilisé pour mesurer l'activité antioxydante d'un échantillon. Ce test est basé sur la capacité des antioxydants présents dans l'échantillon à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) en fer ferreux (Fe^{2+}). Les antioxydants présents dans l'échantillon réagissent avec les ions ferriques, les réduisant en ions ferreux (Fe^{2+}). Cette réduction est associée à un changement de couleur, du jaune-brun de Fe^{3+} au bleu intense de Fe^{2+} . La mesure de l'activité antioxydante se fait en quantifiant le changement de couleur par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 700 nm. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des antioxydants présents dans l'échantillon, ce qui permet d'estimer son activité antioxydante.

Le pouvoir réducteur de l'extrait de son des graines de moutarde brune augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de son des graines de moutarde brune et du Trolox (figure n°16).

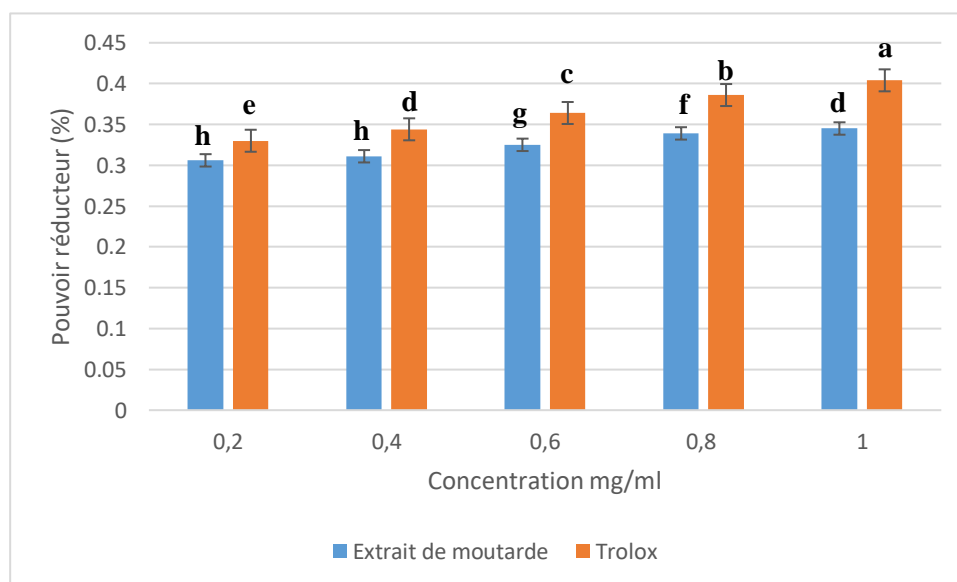


Figure 16 : Pourcentage de pouvoir réducteur de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde comparé avec le Trolox.

● La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e > f > g > h$ et les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais=3).

4-3- Capacité antioxydante ABTS :

Le test ABTS, abréviation de 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid), est un test chimique utilisé pour évaluer l'activité antioxydante d'un échantillon. Il s'agit d'une méthode largement utilisée pour mesurer la capacité des antioxydants à neutraliser les radicaux libres. Son principe repose sur la capacité des antioxydants présents dans l'échantillon à neutraliser le radical cation ABTS⁺ (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) radical cation).

La figure n°17 montre que la capacité antioxydante de l'extrait de son des graines de moutarde brune a été importante 58% pour 1 mg/1ml, et qu'elle augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de son des graines de moutarde brune.

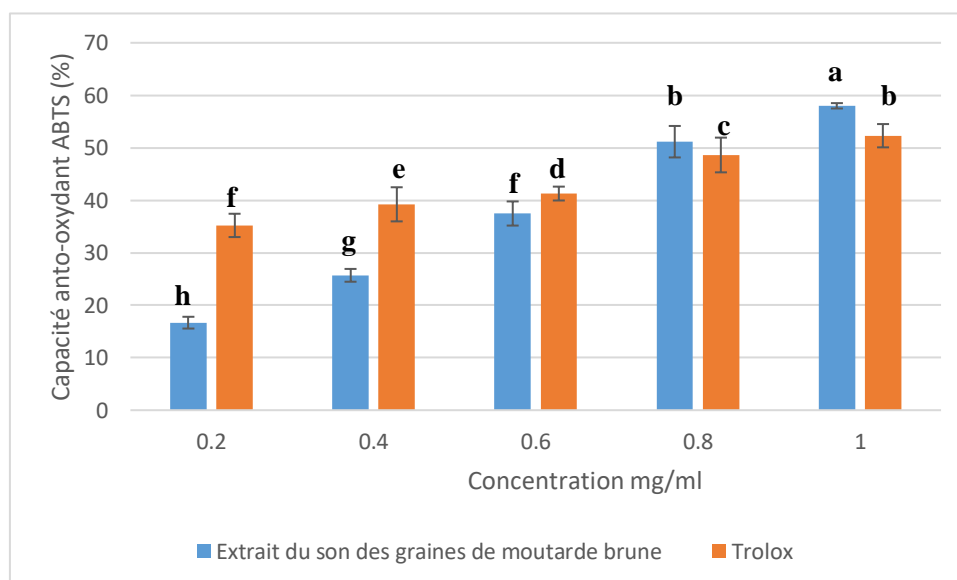


Figure 17 : Pourcentage de la capacité antioxydante (ABTS) de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune.

● La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e > f > g > h$ et les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais=3).

4-4-Activité antioxydante totale :

L'activité antioxydante totale de l'extrait de son des graines de moutarde brune a été importante. La figure n°18 montre que l'activité antioxydante totale augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de son des graines de moutarde brune et du Trolox.

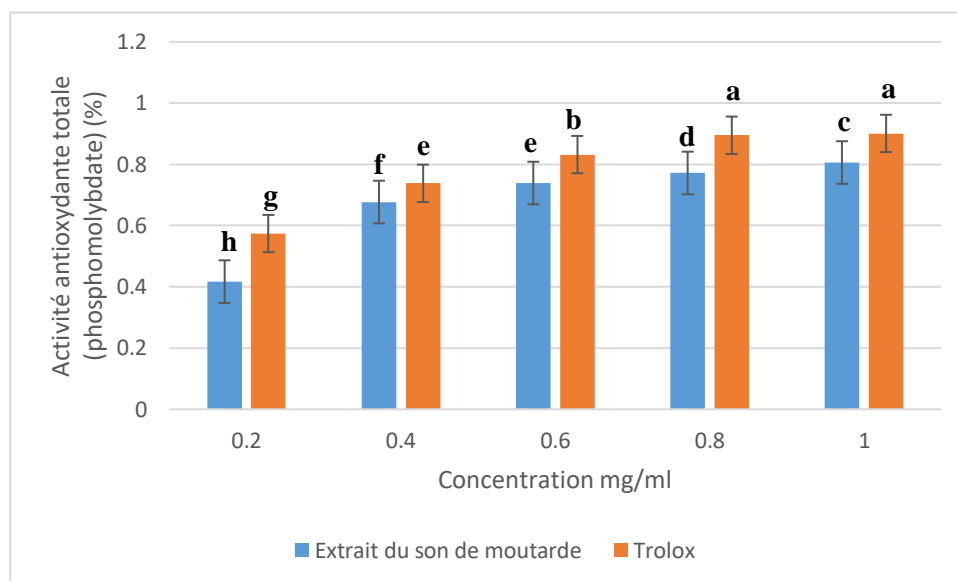


Figure 18 : Pourcentage de l'activité antioxydante totale (molybdate) de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune.

- La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e > f > g > h$ et les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais=3).

4-5- Chélation des ions de fer ferreux :

Le test de chélation des ions de fer ferreux est une méthode utilisée pour évaluer la capacité d'un composé ou d'un échantillon à former des complexes stables avec les ions ferreux (Fe^{2+}) ce qui réduit la disponibilité de ces ions pour participer aux réactions d'oxydation. Ce test est particulièrement utilisé pour évaluer l'activité chélatrice des agents chélateurs, qui sont des substances capables de se lier aux métaux et de former des complexes stables. La capacité de l'échantillon à chélater les ions ferreux est évaluée en mesurant la diminution de la concentration des ions ferreux non chélatés. Une diminution plus importante de la concentration d'ions ferreux indique une capacité plus élevée du composé à former des complexes stables avec les ions ferreux.

La chélation du fer ferreux a été évaluée en utilisant la ferozine qui forme un complexe avec le fer résiduel dans le milieu réactionnel et forme un chromophore rouge (Fe (II) -Ferozine) ayant un maximum d'absorption à 562 nm.

L'acide éthylène-diamine-tétra-acétique (EDTA) est un composé chimique qui peut se lier aux ions métalliques et de former des complexes chimiques solubles. Il possède quatre

V- Résultats et discussion

groupes carboxylates et deux groupes amine, ce qui lui permet de former des liaisons avec des cations métalliques tels que le calcium, le magnésium, le fer, le cuivre et le zinc.

L'utilisation la plus courante de l'EDTA est comme agent chélateur, c'est-à-dire qu'il se lie aux ions métalliques indésirables pour les neutraliser ou les éliminer. En se liant aux ions métalliques, l'EDTA peut empêcher leur réactivité, leur précipitation ou leur formation de dépôts indésirables.

Le pouvoir chélateur de l'extrait de son des graines de moutarde brune a été moyennement important par rapport à l'EDTA, avec un pourcentage de 63,21% pour une concentration de 1mg/ml, et qu'il augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de son des graines de moutarde brune (figure n°19).

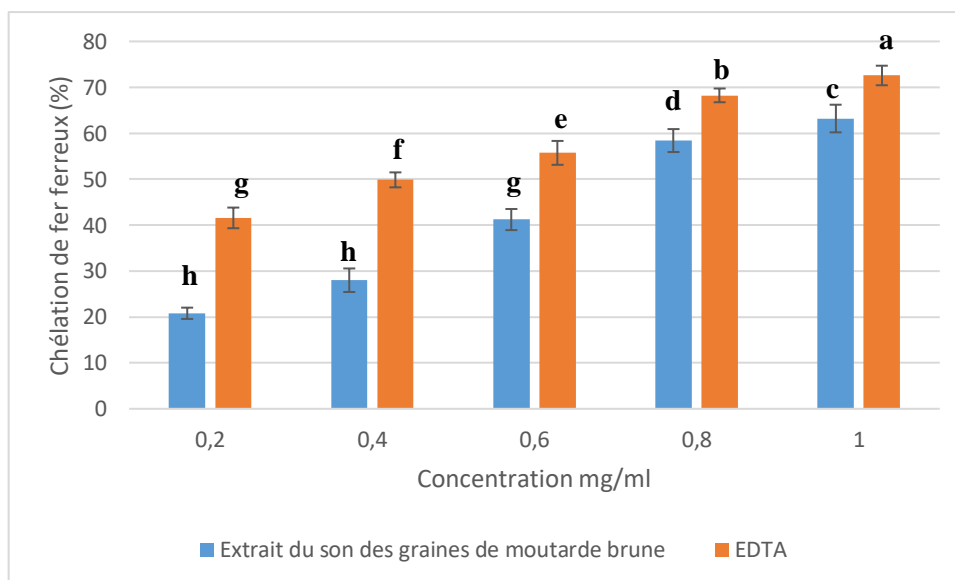


Figure 19 : Pourcentage de pouvoir chélateur du fer ferreux de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune comparé avec l'EDTA.

● La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e > f > g > h$ et les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais=3).

5- Activité anti-inflammatoire *in vitro* :

L'indométacine est un médicament anti-inflammatoire non stéroïdien (AINS). Il est principalement utilisé pour soulager la douleur, réduire l'inflammation et abaisser la fièvre (Sulukdjian *et al.*, 2020).

V- Résultats et discussion

Il agit en inhibant la production de substances chimiques appelées prostaglandines, qui jouent un rôle dans l'inflammation, la douleur et la fièvre. En bloquant la production de ces prostaglandines, l'indométacine réduit les symptômes inflammatoires (**Goffinet, 2010**).

Il peut avoir des effets secondaires, notamment des troubles gastro-intestinaux tels que des maux d'estomac, des nausées, des ulcères, voire des saignements gastro-intestinaux (**Afanou et Berroir, 2020**).

D'après l'histogramme de pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique (figure n°20), on observe que l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune présente une inhibition maximale de la dénaturation des protéines à un pourcentage de 85 % à 1 mg/ml, et la solution standard de l'indométacine présente une inhibition maximale de 92,30 % à la même concentration. Le pourcentage d'inhibition augmente avec l'augmentation des concentrations de l'extrait de son des graines de moutarde brune et de l'indométacine.

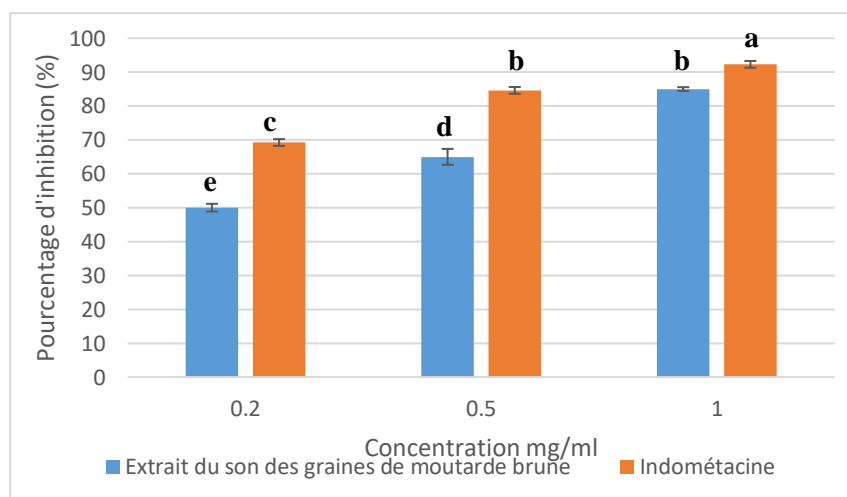


Figure 20 : Pourcentage d'inhibition de la dénaturation protéique de l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde brune comparé avec l'indométacine.

● La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e$ et les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais=3).

6- Activité antidiabétique *in vitro* :

L'activité antidiabétique de l'extrait de son des graines de moutarde a été évaluée par le test de l' α -amylase.

V- Résultats et discussion

L'alpha-amylase est une enzyme digestive présente chez les humains et les animaux produite par les glandes salivaires et pancréatiques ou synthétisé dans les fruits des végétaux durant leur maturation. Elle est responsable de la dégradation et de la digestion de l'amidon et du glycogène en sucres plus simples, elle est aussi utilisée dans l'industrie alimentaire pour convertir l'amidon en sucres fermentescibles (**kaur et al., 2021**).

L'acarbose est un médicament utilisé pour traiter le diabète de type 2. C'est un inhibiteur de l'enzyme alpha-glucosidase (alpha amylase) ce qui retarde l'absorption des sucres dans l'intestin, ce ralentissement de l'absorption des glucides aide à contrôler et réduire les pics de glycémie après les repas (**Belaich et al., 2021**).

Des études ont montré que les inhibiteurs d'Alpha amylase d'origine naturelle tels que les flavonoïdes et les composés phénoliques des plantes (exemple : la quercétine, l'épicatéchine et la phloridzine) ont une capacité à inhiber l'activité de l'alpha amylase, qui veut dire qu'ils ont un potentiel dans la prévention et le traitement du diabète avec, sans ou peu de risque d'effets secondaires (**Khan et al., 2018**).

D'après l'histogramme, on observe que l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde présente un pourcentage d'inhibitions maximal de 52 % et minimal de 35,59 % aux concentrations respectives de 1 mg/ml et 0,2 mg/ml alors que le standard l'acarbose présente une inhibition maximale de 63,05 % et minimal de 25,42 % aux même concentrations (figure n°21).

L'évaluation du pourcentage d'inhibition montre que l'extrait éthanolique de son de graines de moutarde possède une activité antidiabétique in vitro proche de celle de l'acarbose.

La présence d'une activité inhibitrice chez le son des graines de moutarde brunes démontre que ses composés phénoliques ont la capacité de ralentir le diabète type 2 en inhibant la conversion de l'amidon en glucose.

Selon **Mehta (2020)** les antioxydants (flavonoïdes) contenus dans la moutarde protègent également du diabète de type 2. Une décoction de moutarde verte prise avec un médicament hypoglycémiant peut abaisser le taux de sucre dans le sang chez les personnes atteintes de diabète de type 2 plus efficacement que les médicaments seuls.

V- Résultats et discussion

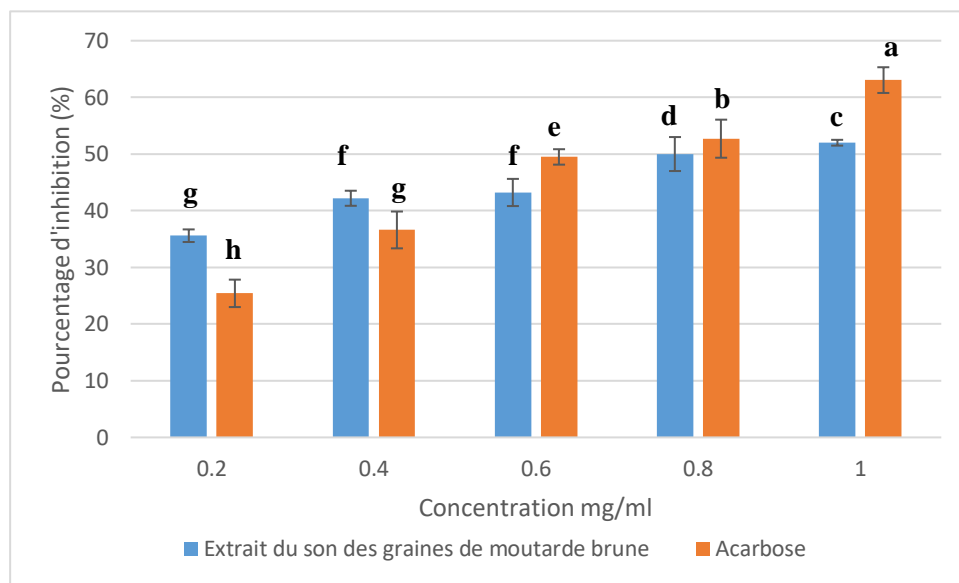


Figure 21 : Pourcentages d'inhibition de l'alpha amylase par l'extrait éthanolique de son des graines de moutarde comparé à l'acarbose.

- La même lettre indique l'absence de différence significative ($p < 0,05$) avec $a > b > c > d > e > f > g > h$ et les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais=3)

Conclusion

La stratégie d'extraction assistée par micro-onde a été développée pour extraire les composés bioactifs du son des graines de moutarde. Les paramètres de fonctionnement ont été optimisés en utilisant une méthodologie de surface de réponse (MRS) permettant d'étudier l'influence de la concentration d'éthanol, le temps d'extraction, la puissance et le rapport solvant/son sur le rendement en CPT de l'extrait en plus de l'évaluation des activités biologiques de ce dernier.

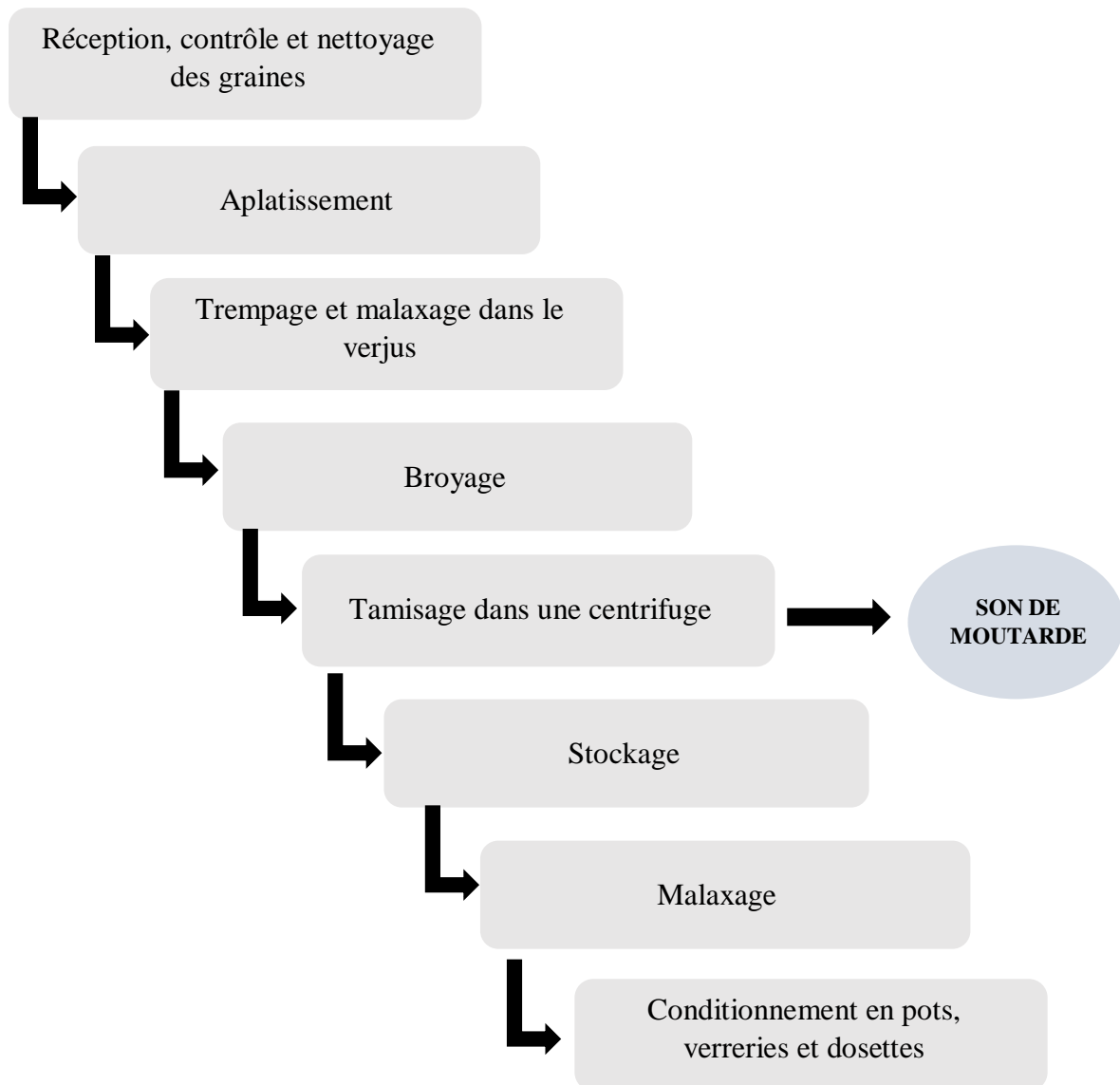
L'optimisation des paramètres d'extraction par micro-ondes a permis d'obtenir des rendements de 2,30 % en CPT. Les conditions optimales étaient les suivants : 60% concentration d'éthanol, 3min30s temps d'extraction, 500W pour la puissance et ration de 20ml/g, cette sélection a permis d'obtenir des extraits riches en composés phénoliques.

L'évaluation des activités biologiques des extraits de graines de moutarde a révélé des propriétés prometteuses. Les tests réalisés ont mis en évidence des activités antioxydantes significatives, indiquant le potentiel des extraits pour lutter contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres. De plus, l'activité anti-inflammatoire et antidiabétique ont été évaluées et les résultats suggèrent un potentiel de son des graines de moutarde pour la réduction d'inflammation et l'inhibition de l'enzyme responsable de diabète type 2.

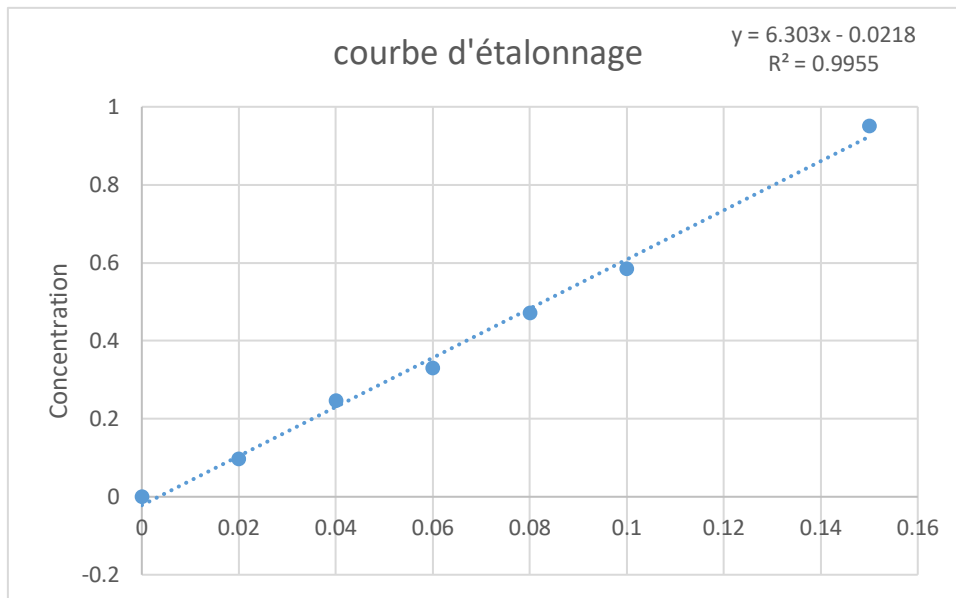
Pour conclure, les résultats de cette étude soulignent l'importance de l'optimisation de l'extraction par micro-ondes et peuvent servir de base pour le développement de produits naturels fonctionnels dans différents domaines. En effet, les industries nous offre une multitude de déchets à valoriser d'un point de vue alimentaire, thérapeutique, cosmétique et dans le domaine de la parfumerie.

Annexes

Annexe I : Etapes de fabrication de la moutarde de Dijon selon les méthodes actuelles. (Dijon : moutarde - son histoire, la technique de fabrication, s. d.)[15]



Annexes II : Courbe d'étalonnage d'acide gallique. [18]



A

Afanou, D., & Berroir, S. (2020). Hémiparésie et aphasie régressive due à l'Indométacine : à propos d'un cas. *Pratique Neurologique - FMC*, 11(4), 238–240. <https://doi.org/10.1016/j.praneu.2020.08.002>

ALI, Ameena, OON, Choo Choong, CHUA, Bee Lin, et al. Volatile and polyphenol composition, anti-oxidant, anti-diabetic and anti-aging properties, and drying kinetics as affected by convective and hybrid vacuum microwave drying of *Rosmarinus officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 2020, vol. 151, p. 112463.

Alok Sagar. N, Sharma.S & Pareek.S (Dir.).10: Extraction, Isolation and Utilisation of Bioactive Compounds from Fresh Fruit and Vegetable Waste. (2017)., Utilisation of Bioactive Compounds from Agricultural and Food Waste (p. 252–271). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315151540-11>

Ayadi, J., Debouba, M., Rahmani, R., & Bouajila, J. (2022). Brassica Genus Seeds : A Review on Phytochemical Screening and Pharmacological Properties. *Molecules*, 27(18), 6008. <https://doi.org/10.3390/molecules27186008>

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436.

B

Bagade, S. B., & Patil, M. (2019). Recent Advances in Microwave Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Complex Herbal Samples : A Review. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 1–12. <https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1686966>

Balaich, J., Estrella, M., Wu, G., Jeffrey, P. D., Biswas, A., Zhao, L., Korennykh, A., & Donia, M. S. (2021). The human microbiome encodes resistance to the antidiabetic drug acarbose. *Nature*, 600(7887), 110–115.

Berger, P. D., Maurer, R. E., & Celli, G. B. (2017). Introduction to Experimental Design. Dans *Experimental Design* (p. 1–19). Springer International Publishing.

C

Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *Trends in analytical chemistry*, 19(4).229–248.

Références Bibliographique

Cash, P., Stanković, T., & Štorga, M. (2016). An Introduction to Experimental Design Research. Dans *Experimental Design Research* (p. 3–12). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33781-4_1

Cendres, A. (2011). Procédé novateur d'extraction de jus de fruits par micro-onde : viabilité de fabrication et qualité nutritionnelle des jus. Université D'AVIGNON, France.

Chemat, F., & Cravotto, G. (Dir.). (2013). *Microwave-assisted Extraction for Bioactive Compounds*. Springer US.

Chemat, F., Zill-e-Huma & Khan, M. K. (2011). Applications of ultrasound in food technology : Processing, preservation and extraction. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(4), 813–835.

Cunningham, D. W., & Wallraven, C. (2011). *Experimental Design*. A K Peters/CRC Press.

Cutolo, G. (2018). Etude du système Myrosinase-Glucosinolate comme outil de bioconjugaison [Thesis, Orléans].

D

Datta A.K et Anantheswaran R.C (2001). *Handbook of Microwave Technology for Food Applications*. Marcel Dekker, New York, United States.

Dean, J. R. (2012). Microwave Extraction. Dans *Comprehensive Sampling and Sample Preparation* (p. 135–149). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-381373-2.00048-x>

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N. (2006). Antioxidant activity of some algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97(4), 654–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.028>

Dressen M. (2009). *Microwave heating in fine chemical applications: role of heterogeneity*. Thesis of Eindhoven University of Technology, Netherlands. Dupont F et Guignard jl. (2007). *systématique moléculaire, abrégé de botanique*. 14e édition, masson, issy-les-moulineaux, 285 pp.

Dubie, J., Stancik, A., Morra, M., & Nindo, C. (2013). Antioxidant Extraction from Mustard (*Brassica juncea*) Seed Meal Using High-Intensity Ultrasound. *Journal of Food Science*, 78(4), E542—E548. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12085>

Duret, X. (2013). Liquéfaction d'écorces en vue de leur valorisation pour le développement de nouveaux produits de traitement du bois [Thesis, Université de Lorraine].

F

Fabre, N., Bon, M., Moulis, C., Fouraste, I., & Stanislas, E. (1997). Three glucosinolates from seeds of *Brassica juncea*. *Phytochemistry*, 45(3), 525–527. [https://doi.org/10.1016/s0031-9422\(96\)00765-0](https://doi.org/10.1016/s0031-9422(96)00765-0)

Fahmi, R. (2016). Antioxidant and antibacterial properties of endogenous phenolic compounds from commercial mustard products [Master en science]. Université de Manitoba, Canada.

G

Garnero J. (1996). Les huiles essentielles. Techniques de l'ingénieur, K 345, Paris.

Goffinet, F. (2010). Indométacine : le retour d'un tocolytique controversé ? Point de vue de l'obstétricien. *Archives de Pédiatrie*, 17, S105—S109. [https://doi.org/10.1016/s0929-693x\(10\)70909-x](https://doi.org/10.1016/s0929-693x(10)70909-x)

Ghafoor, K., et Choi, Y. H. (2009). Optimization of ultrasound assisted extraction of phenolic compounds and antioxidants from grape peel through response surface methodology. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(3), 295–300.

Ghani Abdul , A. G. (2011). Effect of chromium toxicity on growth, chlorophyll and some mineral nutrients of *brassica juncea* L. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences, H. Botany*, 2(1), 9–15. <https://doi.org/10.21608/eajbsh.2011.17007>

Ghasali, E., Alizadeh, M., & Ebadzadeh, T. (2016). Mechanical and microstructure comparison between microwave and spark plasma sintering of Al–B4C composite. *Journal of Alloys and Compounds*, 655, 93–98.

Gülçin I., Okaty M., Küfrevioğlu I., Alsan A. 2002. Determination of antioxidant activity of lichen *Cetraria islandica*. *Journal of Ethnopharmacologie*. 79: 325-329

Gunjan B., Zaidi MGH, S. A. (2014). Impact of Gold Nanoparticles on Physiological and Biochemical Characteristics of *Brassica juncea*. *Journal of Plant Biochemistry & ; Physiology*, 02(02). <https://doi.org/10.4172/2329-9029.1000133>

GÖK, V., ÇAĞLAR, M. Y., & TOMAR, O. (2020). Comparison of chemical properties, antioxidant capacity, and phenolic acids of autoclaved and unautoclaved ground mustard seeds. *Food Science and Technology*.

H

Haddadi-Guemghar, H., Janel, N., Dairou, J., Remini, H., & Madani, K. (2014). Optimisation of microwave-assisted extraction of prune (*Prunus domestica*) antioxidants by response surface methodology. *International Journal of Food Science & ; Technology*, 49(10), 2158–2166. <https://doi.org/10.1111/ijfs.12526>

Références Bibliographique

Hanrahan, G., & Lu, K. (2006). Application of Factorial and Response Surface Methodology in Modern Experimental Design and Optimization. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36(3-4), 141–151. <https://doi.org/10.1080/10408340600969478>

Hébert, M. (2020). Nouvelles approches pour la valorisation des graines de moutarde riches en glucosinolates dans un concept de bioraffinerie [Thesis, Compiègne]. [theses.fr.http://www.theses.fr/2020COMP2552](https://theses.fr/http://www.theses.fr/2020COMP2552)

J

Jean-Yves ANIZON, Benoît LEMAIRE, Michel SURBLED .10 mars 2003. Opérations unitaires et process de fabrication de produits alimentaires, Extraction assisté par micro-ondes. Réf: F3060 v1.

Joshi, N. L., Mali, P. C., & Saxena, A. (1998). Effect of Nitrogen and Sulphur Application on Yield and Fatty acid Composition of Mustard (*Brassica juncea* L.) Oil. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 180(1), 59–63.

K

Kar, B; Kumar, R.S; Karmakar, L; Narayan Dola, N; Bala, A; Mazumder, U.K. and Hadar, P.K. (2012). Antioxidant and in vitro anti-inflammatory activities of *Mimusops elengi* leaves. *J.Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. P. 976-980.

Kaufmann, B., & Christen, P. (2002). Recent extraction techniques for natural products : microwave-assisted extraction and pressurised solvent extraction. *Phytochemical Analysis*, 13(2), 105–113.

Kaur, P., Banga, S., Kumar, N., Gupta, S., Akhtar, J., & Banga, S. S. (2014). Polyphyletic origin of *Brassica juncea* with *B. rapa* and *B. nigra* (Brassicaceae) participating as cytoplasm donor parents in independent hybridization events. *American Journal of Botany*, 101(7), 1157–1166.

Kaur, N., Kumar, V., Nayak, S. K., Wadhwa, P., Kaur, P., & Sahu, S. K. (2021). Alpha-amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus : A comprehensive review. *Chemical Biology & ; Drug Design*, 98(4), 539–560. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13909>

Khan, M; Alam, A; Khan, K.M; Salar, U; Chigurupati, S; Wadood, A; Ali, F; Mohammad, J.I; Riaz, M et Perveen, S. (2018). Flurbiprofen derivatives as novel α -amylase inhibitors: Biology-oriented drug synthesis (BIODS), in vitro, and in silico evaluation. *Bioorganic Chemistry*. 81, 157-167.

Kumar, V., Thakur, A. K., Barothia, N. D., & Chatterjee, S. S. (2011). Therapeutic potentials of *Brassica juncea* : an overview. *TANG [HUMANITAS MEDICINE]*, 1(1), 2.1–2.16.

L

Li, J.-W., Fan, L.-P., Ding, S.-D., & Ding, X.-L. (2007). Nutritional composition of five cultivars of chinese jujube. *Food Chemistry*, 103(2), 454–460.

Liu, X., Zhao, M., Wang, J., Yang, B., & Jiang, Y. (2008). Antioxidant activity of methanolic extract of emblica fruit (*Phyllanthus emblica* L.) from six regions in China. *Journal of Food Composition and Analysis*, 21(3), 219–228.

Liyanapathirana, C; Shahidi, F; (2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food Chemistry*.

Lopez-Avila, V., & Luque de Castro, M. D. (2014). Microwave-Assisted Extraction. Dans *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409547-2.11172-2>

Lucchesi M. E. 2006. Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à L'extraction des Huiles Essentielles. Thèse de Doctorat. 16-59.

Lucchesi, M. E., Smadja, J., Bradshaw, S., Louw, W., & Chemat, F. (2007). Solvent free microwave extraction of *Elletaria cardamomum* L. : A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *Journal of Food Engineering*, 79(3), 1079–1086.

Lucke, T., Walker, C., & Beecham, S. (2019). Experimental designs of field-based constructed floating wetland studies: A review. *Science of The Total Environment*, 660, 199–208. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.01.018>

M

Maddah, H., Aghayari, R., Mirzaee, M., Ahmadi, M. H., Sadeghzadeh, M., & Chamkha, A. J. (2018). Factorial experimental design for the thermal performance of a double pipe heat exchanger using Al₂O₃-TiO₂ hybrid nanofluid. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 97, 92–102.

Mehta, K. (2020,30 mars). <https://www.timesnownews.com/health/article/health-benefits-of-mustard-seeds/571490>

Mailer, R. J., McFadden, A., Ayton, J., & Redden, B. (2008). Anti-Nutritional Components, Fibre, Sinapine and Glucosinolate Content, in Australian Canola (*Brassica napus* L.) Meal. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(10), 937–944. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1268-0>

Mallakpour, S., & Rafiee, Z. (2011). New developments in polymer science and technology using combination of ionic liquids and microwave irradiation. *Progress in Polymer Science*, 36(12), 1754–1765. <https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2011.03.001>

Références Bibliographique

Mandal V., Mohan Y., Hemalatha S. 2007. Microwave-assisted extraction-An innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*. 1(1):7-18.

Martínez-Inda, B., Esparza, I., Moler, J. A., Jiménez-Moreno, N., & Ancín-Azpilicueta, C. (2023). Valorization of agri-food waste through the extraction of bioactive molecules. Prediction of their sunscreen action. *Journal of Environmental Management*, 325, 116460. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2022.116460>

Ma, Y., Chen, J, Liu, D, & Ye, X. (2009). Simultaneous extraction of phenolic compounds of citrus peel extracts: Effect of ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 16(1), 57-62.

Metaxas, A.C, Meredith, R.J. Eds. (1983) *Industrial Microwave Heating*. Peter peregrinus Ltd, London.

Miller, C. J., Smith, S. N., & Pugatch, M. (2020). Experimental and quasi-experimental designs in implementation research. *Psychiatry Research*, 283, 112452.

Murray, M., & Goupy, J. (1991). Réduire les coûts de la simulation informatique grâce aux plans d'expériences : un exemple en calcul de procédé. *Revue de l'Institut Français du Pétrole*, 46(1), 131–141. <https://doi.org/10.2516/ogst:1991006>

N

Nemes, S M, et Orsat, V. (2009). Screening the Experimental Domain for the Microwave-Assisted Extraction of Secoisolariciresinol Diglucoside from Flaxseed Prior to Optimization Procedures. *Food and Bioprocess Technology*, 3(2), 300-307.

Newkirk, R., Classen, H., & Tyler, R. (1997). Nutritional evaluation of low glucosinolate mustard meals (*Brassica juncea*) in broiler diets. *Poultry Science*, 76(9), 1272–1277. <https://doi.org/10.1093/ps/76.9.1272>

O

Ogidi, O. I., Omu, O., & Ezeagba, P. A. (2019). Ethno pharmacologically active components of *brassica juncea* (brown mustard) seeds. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, (09-13).

Ouatmani, T., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Mehidi-Terki, D., Maouche, A., & Madani, K. (2021). A sustainable valorization of industrial tomato seeds (cv Rio Grande) : Sequential recovery of a valuable oil and optimized extraction of antioxidants by microwaves. *Journal of Food Processing and Preservation*, 46(1).

P

Paritosh, K., & Pental, D. (2022). Brassica juncea Genome Assemblies—Characteristics and Utilization. Dans *The Brassica juncea Genome* (p. 241–255). Springer International Publishing.

Parikh, H., & Khanna, A. (2014). Pharmacognosy and Phytochemical Analysis of Brassica juncea Seeds. *Pharmacognosy Journal*, 6(5), 47–54. <https://doi.org/10.5530/pj.2014.5.9>

R

Rakow, G. (2004). Species Origin and Economic Importance of Brassica. Dans *Brassica* (p. 3–11). Springer Berlin Heidelberg.

Roussy, G., & Pearce, J. A. (1995). Foundations And Industrial Applications Of Microwaves And Radio Frequency Fields. Physical And Chemical Processes. Dans *6th International Conference on Optimization of Electrical and Electronic Equipments*. IEEE. <https://doi.org/10.1109/optim.1998.710454>

Routray, W., & Orsat, V. (2017). Microwave-Assisted Extraction of Flavonoids. Dans *Water Extraction of Bioactive Compounds* (p. 221–244). Elsevier.

S

Sarotti, A. M., Spanevello, R. A., & Suárez, A. G. (2007). An efficient microwave-assisted green transformation of cellulose into levoglucosenone. Advantages of the use of an experimental design approach. *Green Chemistry*, 9(10), 1137. <https://doi.org/10.1039/b703690f>

Sethiya, N. K., Trivedi, A., & Mishra, S. (2014). The total antioxidant content and radical scavenging investigation on 17 phytochemical from dietary plant sources used globally as functional food. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, 4(3), 439–444.

Sharma, A., Rai, P. K., & Prasad, S. (2018). GC–MS detection and determination of major volatile compounds in Brassica juncea L. leaves and seeds. *Microchemical Journal*, 138, 488–493.

Sharma, S., Bala, M., Kaur, G., Tayyab, S., & Feroz, S. R. (2022). Chemical Composition of Oil and Cake of Brassica juncea : Implications on Human and Animal Health. Dans *The Brassica juncea Genome* (p. 29–55). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-91507-0_3

Shekhawat, K., Rathore, S. S., Premi, O. P., Kandpal, B. K., & Chauhan, J. S. (2012). Advances in Agronomic Management of Indian Mustard (Brassica juncea(L.) Czernj. Cosson) : An Overview. *International Journal of Agronomy*, 2012, 1–14.

Shirahigue, L. D., & Ceccato-Antonini, S. R. (2020). Agro-industrial wastes as sources of bioactive compounds for food and fermentation industries. *Ciência Rural*, 50(4).

Références Bibliographique

Sulukdjian, A., Nguyen, D., Luciani, V., Chanlon, A., & Moreau, N. (2020). Intérêt de l'indométacine comme traitement d'épreuve des céphalées hémi-faciales : aspects cliniques et pharmacologiques. Dans 66ème Congrès de la SFCO. EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/sfco/20206602016>

T

Telen, D., Logist, F., Van Derlinden, E., Tack, I., & Van Impe, J. (2012). Optimal experiment design for dynamic bioprocesses : A multi-objective approach. *Chemical Engineering Science*, 78, 82–97.

Thyer, B. A. (2012). Pre-Experimental Research Designs. Dans *Quasi-Experimental Research Designs* (p. 29–76). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780195387384.003.0002>

Tian, Y., & Deng, F. (2020a). Phytochemistry and biological activity of mustard (*Brassica juncea*) : a review. *CyTA - Journal of Food*, 18(1), 704–718.

Torrijos, R., Righetti, L., Cirlini, M., Calani, L., Mañes, J., Meca, G., & Dall'Asta, C. (2022). Phytochemical profiling of volatile and bioactive compounds in yellow mustard (*Sinapis alba*) and oriental mustard (*Brassica juncea*) seed flour and bran. *LWT*, 114221. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114221>

Tsubaki, S., Oono, K., Hiraoka, M., Onda, A., & Mitani, T. (2016). Microwave-assisted hydrothermal extraction of sulfated polysaccharides from *Ulva* spp. and *Monostroma latissimum*. *Food Chemistry*, 210, 311–316. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.04.121>

V

Veggi, P. C., Martinez, J., & Meireles, M. A. A. (2012). Fundamentals of Microwave Extraction. Dans *Food Engineering Series* (p. 15–52). Springer US.

Velioglu, Y. S., Mazza, G., Gao, L., & Oomah, B. D. (1998). Antioxidant Activity and Total Phenolics in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(10), 4113–4117.

Vivier, S., Hecquet, M., & Brochet, P. (2005). Optimisation de dispositifs électrotechniques par la méthode des plans d'expériences. *Revue internationale de génie électrique*, 8(5-6), 725–747. <https://doi.org/10.3166/rige.8.725-747>

W

Wang L., Weller C.L. (2006). Recent advances in Extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 300–312

Références Bibliographique

Wen, L., Zhang, Z., Sun, D.-W., Sivagnanam, S. P., & Tiwari, B. K. (2020). Combination of emerging technologies for the extraction of bioactive compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(11), 1826–1841.

Y

Yang, L., Armijo-Olivo, S., & Gross, D. P. (2023). Single-Case Experimental Design in Rehabilitation : Basic Concepts, Advantages, and Challenges. *American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation*, Publish Ahead of Print. <https://doi.org/10.1097/phm.0000000000002215>

Yolmeh, M., & Jafari, S. M. (2017). Applications of response sur-face methodology in the food industry processes. *Food and Bioprocess Technology*, 10(3), 413–433.

Yu, J. C., Jiang, Z. T., Li, R., & Chan, S. M. (2020). Chemical composition of the essential oils of *Brassica juncea* (L.) Coss. grown in different regions, Hebei, Shaanxi and Shandong, of China. *Journal of Food and Drug Analysis*, 11(1). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2729>

Z

Zhang, H.-F., Yang, X.-H., & Wang, Y. (2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants : Current status and future directions. *Trends in Food Science & Technology*, 22(12), 672–688. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.07.003>

Zhu, X., Su, Q., Cai, J., & Yang, J. (2006). Optimization of microwave-assisted solvent extraction for volatile organic acids in tobacco and its comparison with conventional extraction methods. *Analytica Chimica Acta*, 579(1), 88–94.

Résumé :

La méthode d'extraction par micro-ondes a été utilisée pour extraire les composés bioactifs de déchet agro-industriel qu'est le son des graines de moutarde brune reconnues pour leur richesse en composés bioactifs. Les paramètres d'extraction (la puissance, le temps et le rapport solvant-matrice) ont été optimisés afin d'obtenir un rendement d'extraction maximal en composés bioactifs par utilisation de la méthodologie de surface de réponse par le plan composite centré.

L'évaluation de l'activité antioxydante du son des graines de moutarde brune a été faite en utilisant des méthodes *in vitro* ; le pouvoir réducteur, le piégeage des radicaux libres (DPPH et ABTS), chélation de fer ferreux et l'activité antioxydante totale, qu'ont montré que le son de manière optimale présentait une activité antioxydante importante, ce qui suggère son potentiel en tant que source naturelle d'antioxydants. De même pour l'activité anti-inflammatoire et antidiabétique ce qui suggère son potentiel pour atténuer l'inflammation et d'inhiber l'activité de certaines enzymes impliquées dans le métabolisme des glucides.

Enfin, Le rendement en composés phénoliques totaux du son des graines de moutarde brune a été évalué. Les résultats ont démontré un rendement élevé en composés phénoliques totaux (2,30%) ce qui signifie que ce dernier est une bonne source des composés phénoliques.

Mots clés : son des graines de moutarde brune, extraction assistée par micro-ondes, méthodologie de surface de réponse, activité antioxydante, composés bioactifs.

Abstract :

The microwave extraction method was used to extract the bioactive compounds from agro-industrial waste that is the bran of brown mustard seeds known for their richness in bioactive compounds. The extraction parameters (power, time and solvent-matrix ratio) were optimized to obtain maximum extraction yield of bioactive compounds by using the centered composite plane response surface methodology.

The evaluation of the antioxidant activity of the bran of brown mustard seeds was made using *in vitro* methods; reducing power, free radical scavenging (DPPH and ABTS), ferrous iron chelation and total antioxidant activity, which bran optimally showed exhibited significant antioxidant activity, suggesting its potential as a natural source of antioxidants. The same goes for anti-inflammatory and anti-diabetic activity, which suggests its potential to reduce inflammation and inhibit the activity of certain enzymes involved in carbohydrate metabolism.

Finally, the yield of total phenolic compounds from the bran of brown mustard seeds was evaluated. The results showed a high yield of total phenolic compounds (2.30%) which means that the latter is a good source of phenolic compounds.

Keywords: brown mustard seed bran, microwave-assisted extraction, response surface methodology, antioxidant activity, bioactive compounds.