

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MAGISTER

Filière : Sciences alimentaires

Option : Alimentation et Technologie Alimentaire

Présentée par :

M^{me} TALEB Née BOUDRAA Hayet

Thème

**Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols
par micro-ondes et ultrasons des feuilles de *Foeniculum
vulgare* par la méthodologie de surface de réponse.**

Soutenu le : ... /... /...

Devant le Jury composé de :

Mr ZAIDI Farid.	Professeur, Université de Bejaia	Président
Mr MADANI Khodir.	Professeur, Université de Bejaia	Rapporteur
Mme BOULEKBACHE Lila.	Maitre de conférences A, Université de Bejaia	Examineur
Mme KHETTAL Bachra.	Maitre de conférences A, Université de Bejaia	Examineur

Année Universitaire : 2015/2016

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE ABDERRAHMANE MIRA DE BEJAIA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE
DEPARTEMENT DES SCIENCES ALIMENTAIRES

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MAGISTER

Filière : Sciences alimentaires

Option : Alimentation et Technologie Alimentaire

Présentée par :

M^{me} TALEB Née BOUDRAA Hayet

Thème

**Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols
par micro-ondes et ultrasons des feuilles de *Foeniculum
vulgare* par la méthodologie de surface de réponse.**

Soutenu le : ... /... /...

Devant le Jury composé de :

Mr ZAIDI Farid.	Professeur, Université de Bejaia	Président
Mr MADANI Khodir.	Professeur, Université de Bejaia	Rapporteur
Mme BOULEKBACHE Lila.	Maitre de conférences A, Université de Bejaia	Examineur
Mme KHETTAL Bachra.	Maitre de conférences A, Université de Bejaia	Examineur

Année Universitaire : 2015/2016

Remerciement

*A mon directeur de thèse Monsieur le professeur **MADANI Khodir**. J'ai eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir m'ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de ma respectueuse considération et ma profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour moi l'occasion de vous témoigner ma*
profonde gratitude.

*A Monsieur **DAHMOUNE Farid** qui ma guidé à chaque étape de la réalisation de ce travail. Vous m'avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations*
professionnelles.

*A madame **BEDER Wassila** qui ma aidé dans la rédaction de ce document. Un grand*
remerciement pour votre grande sympathie.

*A monsieur le président de jury le professeur **ZAIDI Farid**. Vous me faites l'honneur*
d'accepter avec une très grande amabilité de présider ce jury de thèse

*A madame **BOULKBECHÉ Leila** Vous m'avez honoré d'accepter de siéger parmi*
notre jury de thèse. Un remerciement particulier et sincère pour votre grande sympathie

*A madame **KHETTAL B.** Je vous remercie pour votre estimable participation dans*
l'évaluation de ce travail.

A mes chers collègues et ami (e) s. tous les membres du labo L3BS.

Dédicaces

Souhaitant que le fruit de nos efforts fournis Jour et nuit, nous mènera vers le bonheur fleuri. Nous prions dieu que nous serions enchantés Par notre travail honoré

A ma très chère mère

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mon parcours. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner

A mon Père

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

A mon très cher mari

Mon âme sœur et la lumière de mon chemin. Tes sacrifices Ton amour ta présence à mes cotés m'ont permis de réussir et de donner toujours le meilleur de moi Que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A ma fille Eline

Merci d'être là, toujours à mes cotés tu m'as toujours accompagné dans ce travail même avant ta naissance, pour tout le bonheur et la joie que tu m'offert lorsque je te prends dans mes bras. Que dieu te protège mon petit ange.

A mes très chères sœurs

Hanifa, Noura, Souad, Biba et Sissa . Vous êtes toujours dans mon cœur. Je vous remercie pour votre affection si sincère

A mon très cher frère Chouchou et sa femme Hanane

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

A ma grand-mère maternelle

A la mémoire de la grande dame qui a tant sacrifié pour nous.

A ma chère belle mère et mon beau père

Vous m'avez accueilli à bras ouverts dans votre famille. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé

A mes beaux frères et mes belles sœurs

En témoignage de l'attachement, du respect et de l'affection que je porte pour vous.

A mes chères ami (e)s

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble.

Sommaire

Introduction	1
Chapitre I: nouvelles perspectives pour l'extraction des CPT	
I.1. Extraction assistée par micro-ondes	3
I.1.1. Définition des micro-ondes	3
I.1.2. Historique	3
I.1.3. Mécanisme d'extraction par micro-ondes	4
I.1.3.1. Rotation dipolaire.....	4
I.1.3.2. Conduction ionique	4
I.1.4. Propriété diélectrique du matériau.....	6
I.1.5. Technologie du four à micro-ondes.....	7
I.1.5.1. Le magnétron	7
I.1.5.2. Guide d'onde.....	7
I.1.5.3. Applicateur.....	8
I.1.6. Les phénomènes électromagnétiques	9
I.1.6.1. Propagation des micro-ondes	9
I.1.6.2. Densité d'énergie	9
I.1.7. Facteurs influençant l'extraction assistée par micro-ondes.....	11
I.1.7.1. Puissance des micro-ondes.....	11
I.1.7.2. Temps d'extraction.....	11
I.1.7.3. Température	11
I.1.7.4. Nature du solvant	11
I.2. Extraction assistée par ultrasons	12
I.2.1. Définition des ultrasons	12
I.2.2. Propagation des ondes ultrasonores.....	12
I.2.3. Historique	13
I.2.4. Appareillage.....	13
I.2.4.1. Sonificateur à sonde ultrasonore (contact direct).....	13
I.2.4.2. Bacs à ultrasons (contact indirect)	14
I.2.5. Mécanisme d'extraction assistée par ultrason	14

I.2.5.1. Phénomène de cavitation.....	14
I.2.5.2. Etapes de la cavitation.....	15
I.2.5.3. Cavitation stable et cavitation transitoire.....	15
I.2.6. Paramètres influençant la cavitation.....	16
I.2.6.1. La fréquence des ondes ultrasonores.....	16
I.2.6.2. Puissance des ultrasons.....	16
I.2.6.3. Température.....	16
I.2.6.4. Pression.....	17
I.2.6.5. Gaz.....	17
I.2.6.6. Solvant.....	18
I.2.6.7. Interaction solvant/échantillon.....	18
I.2.6.8. Caractéristiques de Réacteur.....	18

Chapitre II: Etat de l'art sur le fenouil

II.1. Présentation de fenouil.....	19
II.1.1. Noms vernaculaires.....	19
II.1.2. Répartition mondiale.....	19
II.1.3. Systématique.....	19
II.1.3.1. La famille des Apiacées.....	19
II.1.3.2. Le genre <i>Foeniculum</i>	20
II.1.3.3. L'espèce <i>Foeniculum vulgare</i>	20
II.1.4. Description botanique et structure morphologique.....	20
II.1.5. Description phytochimique et usage.....	22
II.2. Travaux antérieurs.....	23
II.2.1. Composition chimique.....	23
II.2.1.1. Composition en métabolites primaires.....	23
II.2.1.2. Composition en métabolites secondaires.....	24
II.2.2. Activités biologiques.....	32
II.2.2.1. Activité antioxydante.....	32
II.2.2.2. Activité antimicrobienne.....	32
II.2.2.3. Activité anti-inflammatoire.....	33
II.2.2.4. Activité oestrogéniques.....	33
II.2.2.5. Effet sur la digestion.....	33

II.2.2.6. Effet vasculaire	33
II.2.2.7. Effet sur la contraction utérine	33
II.2.2.8. Effet bronchodilatateur	34
II.2.2.9. Activité hépato-protectrice	34
II.2.2.10. Effets sur la mémoire et la cognition.....	34
II.2.2.11. Effets antimutagènes	34
II.2.2.12. Activité galactogène	34
II.2.3. Extraction à partir de <i>Foeniculum vulgare</i>	35

Chapitre III: Matériel et Méthodes

III.1.matériel végétal	39
III.1.1. Choix de la matrice	39
III.1.2. Origine.....	39
III.1.3. Traitements du matériel végétal	39
III.1.3.1. Détermination du taux d'humidité	40
III.1.3.2. Séchage	40
III.1.3.3. Broyage	40
III.1.3.4. Tamisage et conservation.....	40
III.1.3.5. Détermination de l'activité de l'eau (AW)	40
III.2.optimisation des conditions d'extraction	41
III.2.1. Etudes préliminaires.....	41
III.2.1. 1. Choix de la nature et la concentration du solvant d'extraction.....	41
III.2.1. 2. Temps d'extraction.....	41
III.2.1. 3. Puissance (MAE)	41
III.2.1.4. Amplitude (UAE).....	41
III.2.1.5. Ratio solide/liquide	42
III.2.1.6. Mode de pulsation (UAE).....	42
III.2. 2. Application du plan d'expérience	42
III.3.Procédures de l'extraction.....	43
III.3.1.Extraction assistée par micro-ondes.....	44
III.3.2. Extraction assistée par ultrasons	44
III.3.3. Extraction conventionnelle.....	45

III.4. Dosage des composés phénoliques.....	45
III.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	45
III.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	45
III.4.3. Dosage des tanins.....	46
III.5. Dosage de la chlorophylle <i>a</i> , <i>b</i> , et caroténoïdes.....	46
III.6. Détermination de l'activité antioxydante.....	47
III.6.1. Pouvoir réducteur.....	47
III.6.2. Test au radical DPPH°.....	47
III.6.3. Pourcentage d'inhibition de l'ABTS.....	48
III.6. Analyse statistique.....	48

Chapitre IV: Résultats et discussion

IV.1. Taux d'humidité et activité d'eau.....	49
IV.2. Extraction assistée par micro-onde.....	49
IV.2. 1. Études préliminaires.....	49
IV.2. 1.1. Effet du solvant d'extraction.....	50
IV.2. 1.2. Effet de la concentration de l'éthanol.....	51
IV.2.1.3. Temps d'extraction.....	51
IV.2.1.4. Puissance.....	51
IV.2.1.5. Ratio solide/liquide.....	52
IV.2. 2. Application du plan d'expérience.....	52
IV.2.2.1. polyphénols totaux.....	52
IV.2.2.2. flavonoïdes.....	57
IV.2.2.3. DPPH.....	61
IV.2.2.4. Conditions optimales.....	66
IV.3. Extraction assistée par ultrasons.....	67
IV.3. 1. Études préliminaires.....	67
IV.3. 1.1. Effet du solvant d'extraction.....	67
IV.3. 1.2. Effet de la concentration de l'éthanol.....	68
IV.3. 1.3. Temps d'extraction.....	68
IV.3. 1.4. Amplitude.....	69

Sommaire

IV.3. 1.5. Ratio solide/liquide	69
IV.3. 1.6. Cycles de pulsation	69
IV.3.2. Application du plan d'expérience	70
IV.3.2.1. polyphénols totaux	70
IV.3.2.2. flavonoïdes	74
IV.3.2.3. DPPH	79
IV.3.2.4. Conditions optimales	83
VI.4. Etude comparative entre la méthode d'extraction assistée par micro-onde, ultrasons et la méthode conventionnelle.....	84
VI.4.1. Dosage des polyphénols totaux.....	84
VI.4.2. Dosage des flavonoïdes.....	85
VI.4. 3. Dosage des tanins.....	85
VI.4.4. Dosage de la chlorophylle <i>a</i> , <i>b</i> , et caroténoïdes.....	86
VI.4.5. Activité anti oxydante des extraits.....	87
VI.4.6. Etude des corrélations	87
Conclusion	90
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

Liste des abréviations

Abréviations	Significations
ABTS^{•+}	2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonic acid).
ANOVA	Analyse of variance.
BBBS	Biochimie, Bioinformatique, Biostatistique et Scientometrie.
BBD	Box-Behenken Design.
BHA	Butyl Hydroxy Anisol.
CPT	Composés Phénoliques Totaux.
DF	Degré of freedom
DPPH[•]	1,1-Diphényle-2-picryl Hydrazyle.
EAG	Equivalent Acide Gallique.
EC	Extraction Conventiennelle.
ER	Equivalent Rutine
MAE	Extraction Assistée Par Micro-onde
MRS	Méthodologie de surface de réponse
MS	Matière sèche
R²	Coefficient de corrélation
R² Adj	Coefficient de corrélation ajusté
RMSE	Root Mean Squar Error.
Sec	Seconde
SD	Standard Derivation
TCA	Acide trichloro-acétique
UAE	Extraction Assistée par Ultrasons.

Liste des Figures

N°	Titre	Page
I.1.1	Spectre électromagnétique	3
I.1.2	Distribution des dipôles sous l'effet dans un champ électrique	4
I.1.3	Interaction de la matière avec l'énergie micro-onde	5
I.1.4	Comparaison entre chauffage conventionnel et le chauffage par micro-onde	5
I.1.5	Coupe schématique d'un magnétron	7
I.1.6	Représentation schématique de four micro-onde	8
I.2.1	Appareillage d'irradiation à sonde ultrasonore	13
I.2.2	Représentation schématique de la raréfaction et la compression	14
I.2.3	Croissance et implosion de la bulle de cavitation dans les solutions aqueuses en présence de l'irradiation ultrasonique	15
II.1.1	Représentation photographique de différentes parties de fenouil	21
II.2.1	Structure moléculaire des huiles essentielles majeurs de <i>Foeniculum vulgare</i>	25
II.2.2	Structures de base des flavonoïdes	26
II.2.2	Structures des acides phénoliques	27
II.2.3	Structure des stilbènes	27
II.2.4	Structure des tannins	28
III.1	Photographie de <i>F. vulgare</i>	39
III.2	Matériels utilisés pour MAE	44
III.3	Matériels utilisés pour l'UAE	45
IV.1	surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en CPT.	55
IV.2	Surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en flavonoïdes	60
IV.3	Surface de réponse pour les différentes interactions sur l'activité antioxydante	64
IV.4	Effet du cycle de pulsation sur l'extraction CPT par UAE	69
IV.5	Surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en CPT	72
IV.6	Surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en flavonoïdes	77
IV.7	Surface de réponse pour les différentes interactions sur l'activité antioxydante	81
IV.8	Teneurs en CPT des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC.	84
IV.9	Teneur en flavonoïdes des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC.	85
IV.10	Teneur en tanins des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC.	86

Liste des Figures

IV.11	Teneur en chlorophylle <i>a</i> , <i>b</i> , et caroténoïdes des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC	86
IV.12	Pouvoir antioxydant des extraits obtenus par MAE, UAE et EC évalué par les testes au DPPH et à l'ABTS	87
IV.13	Pouvoir réducteur des extraits obtenus par MAE, UAE et EC.	88

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
I.1.1.	Facteur de dissipation ($\tan \delta$) pour différents produits	6
II.2.1	Valeurs des teneurs en composés appartenant au métabolisme primaire du <i>Foeniculum vulgare</i>	24
II.2.2	Quelques composés phénoliques isolés de <i>F. vulgare</i>	29
II.2.3	Travaux antérieurs effectués sur le fenouil	35
II.2.4	Travaux antérieurs sur l'extraction à partir de <i>Foeniculum vulgare</i>	36
III.1	Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par micro-ondes.	42
III.2	Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par ultra-sons.	43
IV.1	Taux d'humidité des feuilles de <i>F vulgare</i>	49
IV.2	Taux d'humidité et l'activité de l'eau de la poudre des feuilles de <i>F vulgare</i>	49
IV.3	Résultats des analyses préliminaires pour MAE	50
IV.4	Valeurs expérimentales et prédites des CPT du plan BBD	53
IV.5	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT en utilisant le BBD de la surface de réponse	57
IV.6	Valeurs expérimentales et prédites des flavonoïdes du plan BBD	58
IV.7	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les flavonoïdes en utilisant le BBD de la surface de réponse	61
IV.8	Valeurs expérimentales et prédites des activités antioxydantes (% d'inhibition de DPPH) du plan BBD	62
IV.9	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les l'activité antioxydante (inhibition du radicale DPPH) en utilisant le BBD de la surface de réponse	65
IV.10	Conditions optimales d'extraction	66
IV.11	Résultats des analyses préliminaires pour UAE	67
IV.12	Valeurs expérimentales et prédites des CPT du plan BBD	70
IV.13	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT en utilisant le BBD de la surface de réponse	74
IV.14	Valeurs expérimentales et prédites des flavonoïdes du plan BBD	75

Liste des tableaux

	utilisant le BBD de la surface de réponse	
IV.15	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les flavonoïdes en utilisant le BBD de la surface de réponse	78
IV.16	Valeurs expérimentales et prédites de l'activité antioxydante (% d'inhibition de DPPH) du plan BBD	79
IV.17	Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur l'activité antioxydante en utilisant le BBD de la surface de réponse	82
IV.18	Conditions optimales d'extraction	83

Introduction

Introduction

Le fenouil (*Foeniculum vulgare*) est une plante de la famille des Apiaceae généralement originaire des régions méditerranéennes. Le fenouil est beaucoup utilisé en préparations culinaires et en médecine traditionnelle. Les effets bénéfiques possibles de la consommation de fenouil peuvent être liés à la présence de deux groupes de métabolites secondaires: les polyacétylènes et les polyphénols (**Haddar et al., 2014**).

Qui de nous n'a pas consommé ou utilisé, il y'a une certitude que lors de son usage une bonne partie est considérée comme déchet, à savoir les parties aériennes de la plante. Cependant, ce déchet gagnerait à être appelé sous-produit car c'est une bonne source des composés phénoliques de haute qualité qui peuvent être utilisés dans la médecine traditionnelle et moderne, grâce à leur capacité de neutraliser les radicaux libres dans les systèmes biologiques, ainsi que dans l'industrie agro-alimentaire dans le but de minimiser l'utilisation des antioxydants synthétiques tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA) et l'hydroxytoluène butylé (BHT) dans les aliments en raison de leurs effets indésirables sur la santé humaine.

L'extraction est une étape importante dans la fabrication des produits phytochimiques qui constitue un sujet de recherche actuel. Des composés phénoliques de diverses plantes ont été isolés par des méthodes conventionnelles qui sont généralement moins efficaces, prennent beaucoup de temps et consomment énormément de solvants. (**Prakash, 2013**)

De nos jours, il y a une demande croissante du développement des processus verts d'extraction avec un temps d'extraction limité et une consommation réduite en solvants nocifs, en énergie et en rejet de CO₂. Au cours de cette recherche deux méthodes « vertes » d'extraction des polyphénols de Fenouil ont été développées :

- ✓ L'extraction assistée par micro-ondes (MAE).
- ✓ L'extraction assistée par ultra-sons (UAE).

MAE est une méthode d'extraction rapide qui génère une pression élevée à la matière végétale et conduit à une rupture des cellules, en améliorant la pénétration des solvants d'extraction. (**Chupina et al., 2015**).

UAE est considérée comme un processus, montrant un effet positif important sur l'extraction des composés phénoliques à partir de diverses sources végétales, le phénomène de cavitation étant dominant. Avec un temps réduit, une minimisation d'énergie et une réduction du

taux de CO₂ rejeté dans l'atmosphère pendant l'extraction, l'UAE est considérée plus performante que la macération (**Galvan et al., 2013**).

La présente étude a pour objectif d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques totaux (CPT) par deux méthodes MAE et UAE à partir des feuilles de fenouil, en utilisant des plans d'expérience permettant la modélisation mathématique pour obtenir les conditions optimales et pouvoir expliquer l'interaction des paramètres expérimentaux sur l'extraction.

La première partie de ce travail concerne tout d'abord la synthèse bibliographique, qui comporte la présentation des deux méthodes d'extraction MAE et UAE. Elle est suivie par une synthèse des principaux travaux phytochimiques antérieurs et des études réalisées sur les propriétés biologiques relatives au fenouil, la deuxième partie traite est consacrée aux matériel et méthodes utilisés, suivit des résultats expérimentaux et discussion.

Une conclusion générale ainsi que des perspectives de recherche sont apportées pour compléter le présent travail.

Synthèse

Bibliographique

Chapitre I :

Nouvelles perspectives pour l'extraction des CPT

I.1. Extraction assistée par micro-ondes

I.1.1. Définition des micro-ondes

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques, possédant 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. Néanmoins, dans le but d'éviter des interférences avec les radiocommunications et les radars, les micro-ondes domestiques et industrielles sont généralement utilisées à une fréquence de 2.45 GHz (Camel, 2000). Les micro-ondes sont positionnées sur le spectre électromagnétique entre les infrarouges et les radiofréquences, avec des valeurs de longueurs d'ondes comprises entre 1 cm et 1 m (Figure I.1.1).

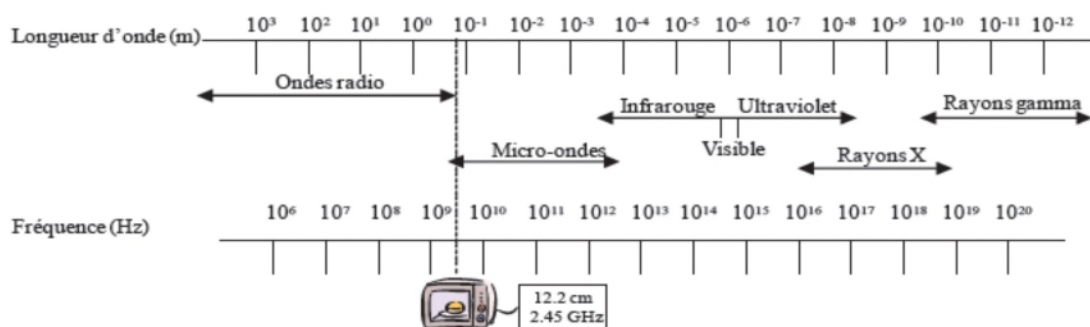


Figure I.1.1 : Spectre électromagnétique (Sahin et Sumnu, 2006).

I.1.2. Historique

La découverte des micro-ondes s'est faite fortuitement, c'est au cours de la seconde guerre mondiale, lors de travail sur l'optimisation des radars. En 1946, le docteur Percy Spencer en travaillant à proximité d'un radar en activité, remarqua que la barre chocolatée qui se trouvait dans la poche de sa blouse avait fondu. Rapidement, il testa d'autres matrices (pop corn, œufs..., etc.), et se rendit compte que les micro-ondes pouvaient véhiculer une énergie substantielle. En 1950, un brevet est déposé par la société Raytheon concernant l'utilisation des micro-ondes pour la cuisson des aliments. L'invention intéressa alors de nombreux ingénieurs et industriels. Le premier four à micro-ondes est commercialisé en 1953 sous le nom de « Radarange » (Gallawa, 2007).

I.1.3. Mécanisme d'extraction par micro-ondes

Le mécanisme de chauffage par micro-ondes, aussi appelé chauffage diélectrique, se fait par interactions entre la composante électrique de l'onde électromagnétique avec les substances lors que celles-ci sont soumises à un champ électrique statique ou alternatif. 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 (Galema, 1997).

I.1.3.1. Rotation dipolaire

L'application d'un champ électrique statique ou alternatif (figure I.1.2) au sein d'un matériau diélectrique provoque une déformation des molécules ainsi qu'une réorientation de ses moments dipolaires permanents (Dressen, 2009).

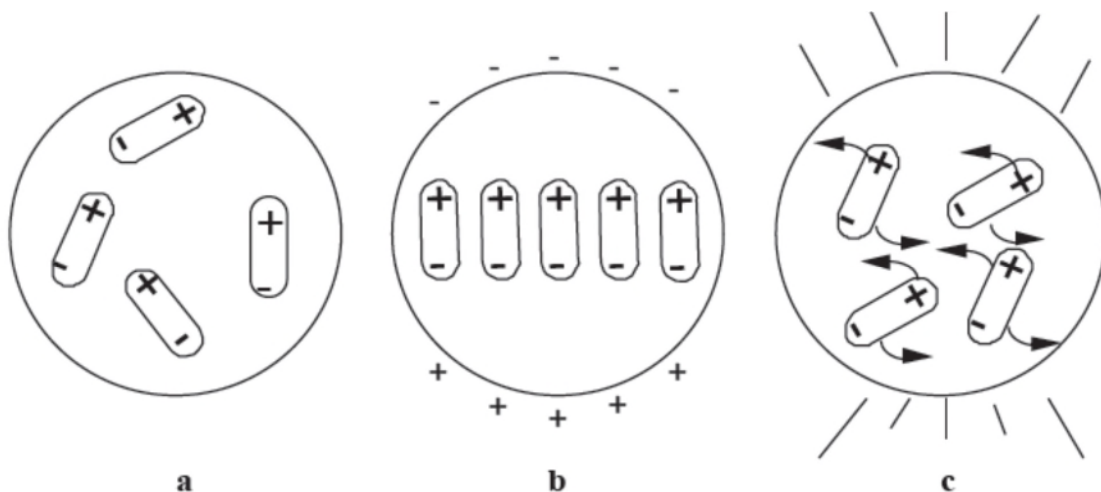


Figure I.1.2: Distribution des dipôles sous l'effet dans un champ électrique.

A : Absence de champ électrique, b : sous champ électrique continu, c : sous champ électrique alternatif (Perreu et loup, 2001).

I.1.3.2. Conduction ionique

Les charges électriques libres (ions) soumises à un champ électrique \vec{E} vont migrer dans le sens du champ et sont à l'origine d'un courant de conduction J_c . Il s'agit du mécanisme de conduction ionique.

$$\vec{j}_c = \sigma \cdot \vec{E} \dots \dots \dots (I. 1. 1)$$

Où :

j_c : courant de conduction, σ : conductivité électrique, E : champ électrique.

Les phénomènes de la rotation dipolaire et de la conduction ioniques sont représentés dans (figure I.1.3)

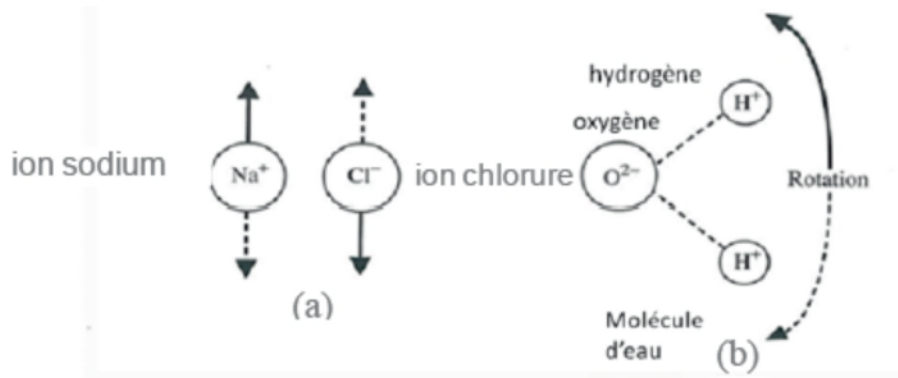


Figure I.1.3 : Interaction de la matière avec l'énergie micro-onde. (a) rotation dipolaire, (b) conduction ionique (Sahin et Sumnu, 2006).

Contrairement au chauffage conventionnel par conduction thermique, l'agitation moléculaire est la source principale de production de chaleur pour le chauffage par micro-ondes (figure I.4). Ainsi, la matrice absorbe l'énergie directement et s'échauffe rapidement, devenant elle-même source de chaleur. 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).



Figure I.1.4: Comparaison entre chauffage conventionnel (a), chauffage par micro-onde (b) (Bozkurt et Icier, 2010).

I.1.4. Propriété diélectrique du matériau

L'aptitude d'un solvant à s'échauffer sous l'action d'un rayonnement micro-onde et à transmettre la chaleur aux autres molécules peut être évaluée par le facteur de dissipation (**tanδ**) lié au facteur de perte diélectrique ou moment dipolaire (ϵ'') et à la constante diélectrique (ϵ') par la relation :

$$\mathbf{tan\delta = \epsilon'' / \epsilon' \dots \dots \dots (I.1.2)}$$

ϵ'' mesure la capacité à convertir l'énergie micro-onde en chaleur, et ϵ' correspond à la capacité des molécules à se polariser dans un champ électrique (**Sparr Eskilsson et Björklund, 2000**). Les facteurs de dissipation (**tan δ**) de quelques produits sont donnés dans le tableau (I.1.1).

Tableau I.1.1. Facteur de dissipation (**tan δ**) pour différents produits (**Dressen, 2009**).

Solvant	Tan δ _a	Solide/liquide	Tan δ
Ethylène glycol	1.350	Glace	0.00027 (0°C) ^d
Ethanol	0.941	Eau	0.207 (0°C) ^b
DMSO	0.825	Eau	0.123 (20°C) ^a
Méthano	0.659	Eau	0.097 (25°C) ^b
NMP	0.275		
Acide acétique	0.174		
Eau	0.123		
Chloroforme	0.091		
Dichlorométhane	0.042	Matériaux	Tan δ_c
Toluène	0.040	Téflon	0.00028
Hexane	0.020	Quartz	0.00006

a : (20°C) 2.45 GHz, **b :** 2.0 GHz, **c :** (20°C) 3 GHz, **d :** 2.45 GHz

I.1.5. Technologie du four à micro-ondes

Un four micro-ondes est constitué de trois éléments principaux: un magnétron, un guide d'ondes et un applicateur ou une cavité micro-ondes. En outre, de nombreux éléments peuvent être ajoutés et adaptés en fonction des besoins de l'expérience.

I.1.5.1. Le magnétron

Le magnétron (générateur) constitue la base de la production d'énergie électromagnétique (Cendres, 2011). Le magnétron est une diode thermoionique cylindrique. Une diode est un tube à vide avec deux électrodes, l'anode et la cathode (figure I.1.5). Cette diode est composée d'une cathode chauffée qui émet des électrons et d'une anode polarisée positivement par rapport à la cathode qui attire les électrons par le champ électrique continu (Lucchesi, 2005).

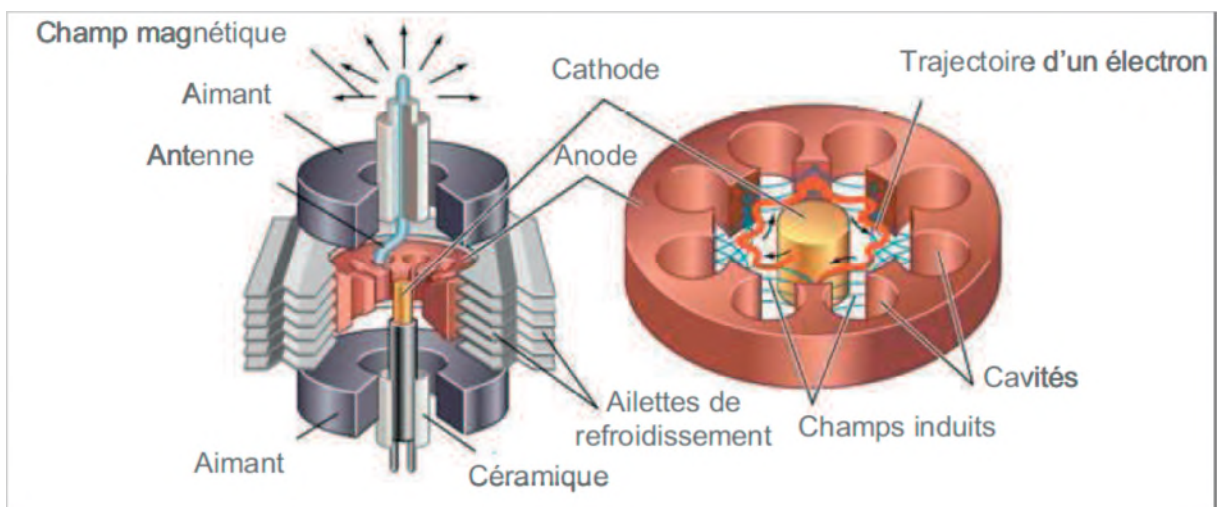


Figure I.1.5: Coupe schématique d'un magnétron (Viot, 2009).

I.1.5.2. Guide d'onde

Le guide d'onde est une pièce métallique qui conduit les ondes depuis le générateur jusqu'à l'applicateur. Il s'agit d'un tube parallélépipédique creux de dimensions bien précises dans lequel se trouvent des ondes progressives. Ses dimensions conditionnent le mode de propagation des ondes électromagnétiques (Datta et Anantheswaran, 2001).

I.1.5.3. Applicateur

Les ondes électromagnétiques vont être envoyées dans un guide d'onde en vue de leur propagation dans l'applicateur (Cendres, 2011). Deux grandes catégories d'applicateurs existent :

a. Cavité monomode

Les réacteurs monomodes sont aussi constitués d'un magnétron émetteur des micro-ondes, mais cette fois elles sont focalisées sur l'échantillon à irradier par l'intermédiaire d'un guide d'onde (Joly, 2003).

b. Cavité multimode

La cavité à multi modes est grande et les ondes incidentes peuvent affecter plusieurs modes de résonance. Cette superposition des ondes permet l'homogénéisation du champ. Des systèmes comme les plats tournants qui sont additionnés pour l'homogénéisation (Chandrasekaran, 2013).

Les deux modes d'applicateurs sont schématisés dans la figure (I.1.6)

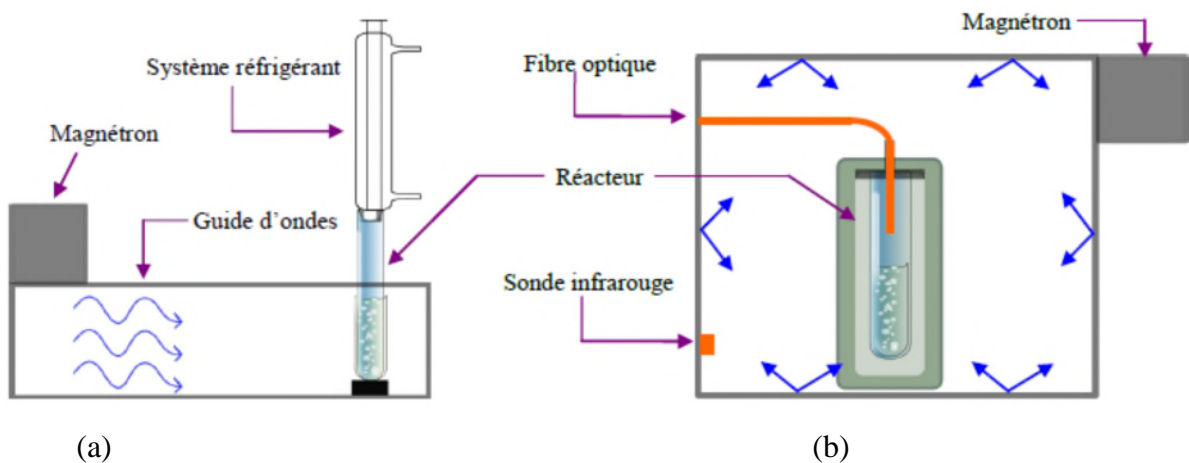


Figure I.1.6: Représentation schématique de four micro-onde. (a) monomode et (b) multimode (Mandal *et al.*, 2007).

I.1.6. Les phénomènes électromagnétiques

I.1.6.1. Propagation des micro-ondes

La propagation des micro-ondes obéit, quelle que soit la nature du milieu, aux équations de Maxwell.

Loi de Coulomb :

$$\text{div}(\vec{D}) = \rho \dots \dots \dots (\text{I. 1. 3})$$

$$\text{div}(\vec{B}) = 0 \dots \dots \dots (\text{I. 1. 4})$$

Loi de Faraday :

$$\text{rot}(\vec{E}) = \frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \dots \dots \dots (\text{I. 1. 5})$$

Loi d'Ampère modifiée :

$$\text{rot}(\vec{H}) = \vec{j} + \frac{\partial \vec{D}}{\partial t} \dots \dots \dots (\text{I. 1. 6})$$

Avec:

$$\vec{j} = \sigma \cdot \vec{E} \dots \dots \dots (\text{I. 1. 7})$$

$$\vec{D} = \epsilon \cdot \vec{E} \dots \dots \dots (\text{I. 1. 8})$$

$$\vec{B} = \mu \cdot \vec{H} \dots \dots \dots (\text{I. 1. 9})$$

Où :

E et **H** sont les champs électrique et magnétique (**E** en **V.m⁻¹** et **H** en **A.m⁻¹**),

D et **B** sont les inductions électrique et magnétique (**D** en **A.s.m⁻²** et **B** en **Tesla**),

J est la densité de courant électrique (**A.m⁻²**),

ρ est la densité de courant (**C.m⁻²**),

ε= permittivité électrique (**F.m⁻¹**),

μ= perméabilité magnétique (**H.m⁻¹**),

σ = conductivité électrique (**S.m⁻¹**).

I.1.6.2. Densité d'énergie

La puissance d'irradiation des micro-ondes par une unité donnée de volume d'extraction, est connue sous le nom de « densité d'énergie », elle est prétendue être plus applicable pour l'étude de MAE par rapport au niveau de puissance des micro-ondes (**Alfaro et al.,2003**), Car, la quantité d'énergie fournit pour le chauffage par les micro-ondes ne

reflète pas la puissance réelle absorbée dans le système d'extraction. Seulement une partie de la puissance sera absorbée et ceci dépend de la constante diélectrique du système (**Mandal et al., 2007**).

Selon (**Chan et al., 2013**), La densité d'énergie absorbée (**AED**) est présentée comme la quantité totale d'énergie des micro-ondes absorbée par une unité de volume de solvant utilisé pendant le MAE. L'APD (W/ml) peut être calculée comme suit:

$$ADP = \frac{Q}{V \cdot t_H} \dots \dots \dots (I. 1. 10)$$

Avec :

Q est la chaleur absorbée totalement dans le solvant pendant le chauffage par micro-ondes (**j**), **V** est le volume de solvant (ml) et **t_H** est le temps de chauffage par micro-ondes (minute).

La chaleur totalement absorbée, **Q** peut être calculée à partir des profils de température de solvant pendant le chauffage par micro-ondes en employant la méthode calorimétrique comme c'est montré dans les cas suivants de chauffage:

- ❖ *Cas A:* température finale de chauffage < point d'ébullition de solvant

$$Q = m_L C_p \Delta T \dots \dots \dots (I. 1. 11)$$

- ❖ *Cas B:* température finale de chauffage = point d'ébullition de solvant

$$Q = m_L C_p \Delta T + m_v H_{vap} \dots \dots \dots (I. 1. 12)$$

Avec :

m_L est la masse initiale du solvant d'extraction, **C_P** est la capacité de calorifique du solvant d'extraction, **ΔT** est la différence de température après le traitement par les micro-ondes, **m_v** est la masse du solvant vaporisé, **H_{vap}** est la chaleur de la vaporisation du solvant d'extraction.

Selon les conditions d'extraction, les valeurs d'**AED** du solvant d'extraction pendant le processus de MAE peuvent être déterminées comme suit:

$$AED_t = ADP \cdot t \dots \dots \dots (I. 1. 13)$$

AED_t est la quantité d'énergie totale de micro-onde absorbé par volume solvant pendant l'extraction (J/ml) et **t** est le temps d'extraction (minute).

I.1.7. Facteurs influençant l'extraction assistée par micro-ondes

I.1.7.1. Puissance des micro-ondes

L'intensité de la puissance des micro-ondes 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'il y a une augmentation du rendement d'extraction via l'augmentation de puissance de micro-ondes (**Nemes et Orsat, 2009**).

I.1.7.2. Temps d'extraction

Dans plusieurs études rapportées, le rendement d'extraction change avec la variation du temps d'extraction (**Wang et Weller, 2006**). La durée de l'extraction est fonction de la puissance de micro-onde qui doit toujours être optimisée. 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 (**Camel, 2000**).

I.1.7.3. Température

La température affecte directement la cinétique du transfert de masse du solide vers le solvant donc l'efficacité de l'extraction. La température dépend principalement du solvant, de la matrice et de 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. Mais elle augmente aussi la perméabilité des parois cellulaires et donc diminue la sélectivité. La température opératoire est limitée par les risques de dégradation thermique des produits finis. (**Garnero, 1996**).

I.1.7.4. Nature du solvant

La plupart du temps, l'absorption et donc le réchauffement sont proportionnels à la polarité du solvant. Les solvants peuvent être combinés afin d'atteindre les caractéristiques nécessaires du solvation et du chauffage (**Camel, 2000**).

I.2. Extraction assistée par ultrasons

I.2.1. Définition des ultrasons

Les ultrasons sont des ondes inaudibles avec des fréquences dans la gamme de **16KHz–500 MHz**, au-dessus de la limite supérieure de l'audition humaine. Ils peuvent être transmis par n'importe quel milieu élastique comprenant l'eau, l'eau saturée en gaz, et la boue (Sillanpää et al., 2011).

Étant donné le large spectre de fréquence occupé par les ultrasons, on différencie classiquement deux zones :

❖ **Les ultrasons de puissance** : forte intensité et faible fréquence, de **16 kHz** à **1 MHz**. Dans cette gamme de fréquences, l'effet recherché est une modification du milieu par les ultrasons principalement grâce à la cavitation. on utilise les ultrasons de puissance pour modifier le milieu irradié et obtenir des effets physico-chimiques sur le milieu (Seidi et al., 2012).

❖ **Les ultrasons de diagnostic** : faible intensité et haute fréquence, de **1** à **10 MHz**. Contrairement au cas précédent, dans ce domaine d'application des ultrasons, on ne veut pas que l'onde modifie le milieu traversé. Le but est d'observer l'impact du milieu sur l'onde ultrasonore pour observer la modification de l'onde par le milieu et en déduire ainsi des caractéristiques du milieu traversé (Seidi et al., 2012).

I.2.2. Propagation des ondes ultrasonores

La propagation des ondes ultrasonores se caractérise par l'alternance d'une phase de pression (« **P>0** », compression) à une phase de dépression (« **P<0** », raréfaction) (Serpone, 1994). L'onde ultra sonore se propage suivant l'équation :

$$P = PH + PM\sin(2\pi ft) \dots \dots \dots (I.2.1)$$

Avec : **P** : la pression acoustique dans le milieu, **PH** : la pression hydrostatique du milieu en absence d'onde, **PM** : la pression maximale dans le milieu, **f** : la fréquence (**Hz**) et **t** : le temps (**s**).

I.2.3. Historique

La première production des ondes ultra-sonnes monte aux années 1830, cependant leur utilisation dans la transformation des produits alimentaires a commencé dans les années 1920 aux Etats-Unis. Depuis les années 1950, les Etats-Unis a employé les ondes sur les équipements industriels pour le nettoyage, l'homogénéisation et le découpage ultrasonique des produits alimentaires. Dans les années 1990, le scellage des matériaux d'emballage et la soudure du plastique ont également émergé. Le développement des capteurs piézoélectriques a menés à une augmentation de la recherche sur les ultra-sons qui sont appliqué, par la suite, dans la désintégration des matériaux, l'homogénéisation, et dans l'extraction de subsistances (Mawson et Knoerzer, 2007).

I.2.4. Appareillage

Un dispositif produisant des ultrasons est communément appelé **transducteur**. La technologie des transducteurs est basée sur les propriétés des matériaux piézoélectriques permettant de convertir l'énergie électrique en énergie mécanique. Cette vibration mécanique est alors transmise dans le milieu liquide sous forme d'onde ultrasonore Pour créer une onde ultrasonore. Il existe différents appareillages à l'échelle laboratoire dont on site :

I.2.4.1. Sonificateur à sonde ultrasonore (contact direct)

Il est composé de quatre parties distinctes qui sont (a) le générateur, (b) le convertisseur ultrasonore, (c) la sonde d'amplification et (d) la sonde ultrasonore proprement dite (Figure I.7). Le générateur permet de transformer le courant électrique usuel en énergie électrique à haute fréquence. Le convertisseur transforme l'énergie électrique en énergie mécanique d'une fréquence donnée. La sonde d'amplification augmente l'amplitude de l'onde ultrasonore tandis que la sonde ultrasonore transmet l'onde au milieu réactionnel (Sillanpää et al., 2011).

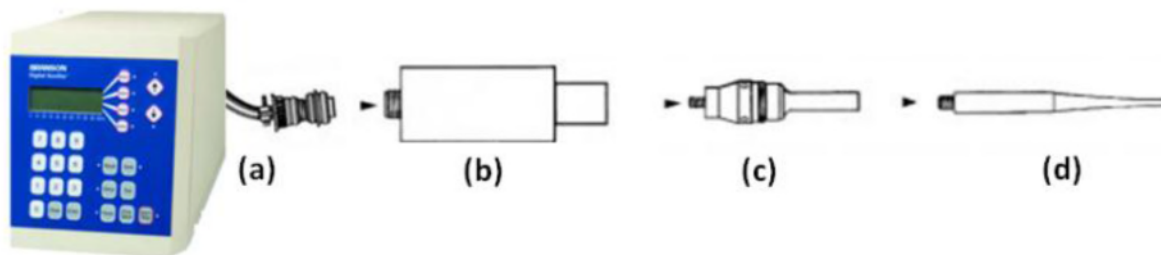


Figure I.2.1 : Appareillage d'irradiation à sonde ultrasonore

- a) générateur
- b) convertisseur
- c) sonde d'amplification
- d) sonde ultrasonore

I.2.4.2. Bacs à ultrasons (contact indirect)

Ce type d'appareillage génère des fréquences comprises entre 20 et 60 kHz à de faibles intensités acoustiques, généralement comprises entre 1 et 5 W.cm². La source vibrante est généralement placée au fond du bac, L'irradiation ultrasonore se fait d'une manière indirecte. Un liquide, généralement l'eau, sert à transmettre l'énergie depuis la zone d'irradiation jusqu'au réacteur où se produit la réaction chimique (Sillanpää et al., 2011).

I.2.5. Mécanisme d'extraction assistée par ultrason

L'extraction assistée par les ultrasons est attribuée à la pression de la propagation des ondes ultrasonores et aux phénomènes résultants de la cavitation. Les puissantes forces de cisaillement augmente le transfert de masse des matériaux extractibles (Jian-Bing et al., 2006). L'impact par ces micro-jets a comme conséquence l'écaillage, la détérioration et destruction des particules. Cet effet fournit l'exposition de nouvelles surfaces augmentant ainsi le transfert de masse. (Shotipruk et al., 2001). Durant le processus d'extraction, la cavitation peut améliorer la pénétration du solvant et détruit les membranes cellulaires lorsque des intensités élevée sont appliquées (Li et al., 2004).

I.2.5.1. Phénomène de cavitation

La cavitation est définie comme une perturbation du milieu liquide sous l'effet de contraintes excessives, accompagnée par la formation, l'expansion et finalement l'implosion violente de bulles créées par cette perturbation. La cavitation décrit l'oscillation non linéaire d'une bulle de gaz et/ou de vapeur dans un liquide (Figure I.2.2) (Leighton, 2007).

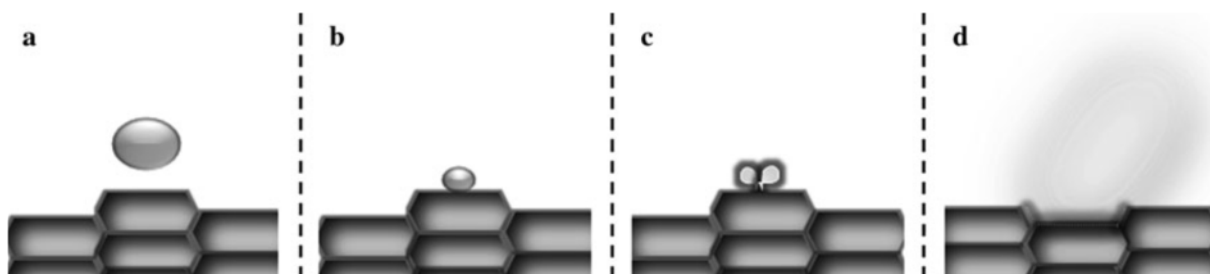


Figure I.2.2 : Représentation schématique de la raréfaction (a) et la compression (b) d'une bulle cavitante qui effondre près de l'interface (c) qui peuvent détruire la paroi cellulaire libérant le matériel intracellulaire dans la solution (d) (Leighton, 2007).

I.2.5.2. Etapes de la cavitation

Le phénomène de cavitation consiste en trois étapes distinctes qui se répètent: formation (nucléation), croissance rapide (expansion) durant les cycles compression/raréfaction jusqu'à l'atteinte de leur taille critique. Puis, ils commencent à subir l'effondrement violent (implosion) dans le liquide (Suslick, 1990).

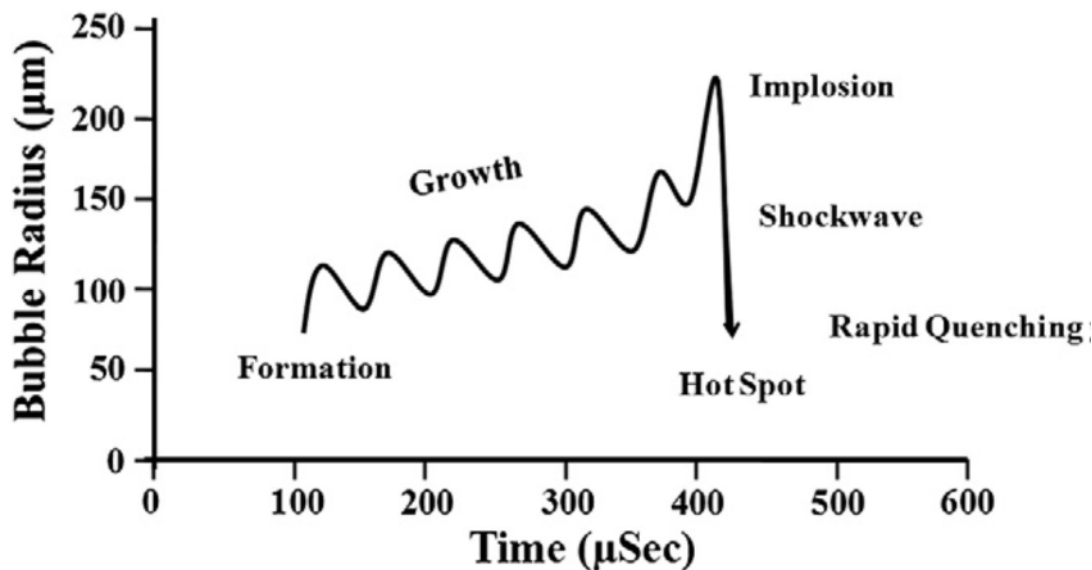


Figure I.2.3: Croissance et implosion de la bulle de cavitation dans les solutions aqueuses en présence de l'irradiation ultrasonique (Suslick, 1989).

I.2.5.3. Cavitation stable et cavitation transitoire

Les interactions entre bulles gazeuses et ondes ultrasonores sont différentes selon l'amplitude de la variation de pression :

a. Cavitation stable

A faible amplitude, la bulle de gaz répond de façon linéaire à la variation de pression, son diamètre varie de façon sinusoïdale simultanément à la pression. Ce phénomène porte le nom de cavitation stable qui ne conduit généralement pas aux phénomènes sono chimiques. (Lepoint et Mullie, 1994)

b. Cavitation transitoire

A forte amplitude de variation de pression, la réponse de la bulle gazeuse devient non linéaire. C'est le phénomène de cavitation transitoire. Après quelques cycles acoustiques,

l'expansion des bulles entraînant une augmentation du volume gazeux. La bulle se contracte à grande vitesse, ce qui est à l'origine des températures et de pressions extrêmes au moment de l'implosion de la cavité, formant de nouvelles microbulles dans le liquide. Les fortes températures engendrées peuvent provoquer la dissociation de la vapeur d'eau en radicaux H[•] et HO[•], la dissociation des autres molécules gazeuses et l'émission de lumière, connue sous le nom de sonoluminescence (Yasuda et al., 2007).

I.2.6. Paramètres influençant la cavitation

Dans le cas de l'extraction assistée par les ultrasons il est nécessaire de prendre en considération l'influence de certains paramètres, tels que la puissance des ultrasons, la fréquence, la température, les dimensions du réacteur, le solvant, le ratio solide-liquide, la structure et la taille des particules (Romdhane et Gourdon, 2002). Parmi ces facteurs, on cite:

I.2.6.1. La fréquence des ondes ultrasonores

La haute fréquence réduira l'effet de la cavitation, à une plus basse fréquence, des cavitations plus violentes seront produites ayant pour résultat une augmentation de la température et de la pression (Wu et al., 2013).

I.2.6.2. Puissance des ultrasons

Il s'agit d'un paramètre qui a l'effet le plus marqué. Une puissance minimale est requise pour que la cavitation ait lieu (seuil de cavitation). L'effet des ultrasons augmente avec la puissance injectée. Cependant il existe une limite physique : lorsque la cavitation devient trop intense, un bouclier de bulles de cavitation se forme sur la surface émettrice. L'onde est fortement amortie par ce coussin de bulles, ce qui diminue l'effet des ultrasons. Une solution consiste à éteindre le générateur de manière cyclique (pulsations) afin d'évacuer ce bouclier de bulles (Laugier, 2007).

I.2.6.3. Température

Une augmentation de la température diminue la solubilité des gaz dans les liquides, et augmente la tension de vapeur du solvant, donc le seuil de cavitation est abaissé (Izella, 2009). Cependant il est prouvé qu'une augmentation de la température diminue l'efficacité des ultrasons. Dans la pratique en présence de ces effets antagonistes, on observe une

température optimale (Mason, 1988). Ma et al. (2009) ont observé une réduction du rendement d'extraction des composés phénoliques et en un temps d'extraction plus long et à des températures plus élevées. C'est probablement dû aux réactions thermiques de dégradation ou de polymérisation des phénols elles-mêmes. Il a été constaté que le rendement maximum d'extraction a été réalisé aux températures significativement différentes pour chaque composé dans la matrice. En général, l'augmentation de la température d'extraction augmente le transfert de masse. Néanmoins, l'augmentation de la température produit moins d'énergie de cavitation due à la diminution de la tension superficielle et à l'augmentation de la pression de vapeur (Kuijpers et al., 2002).

I.2.6.4. Pression

La pression appliquée au milieu (P_l) soumis aux ultrasons peut être calculée comme étant la somme de la pression hydrostatique (P_h) et de la pression acoustique (P_a). Par conséquent la cavitation sera possible dans le liquide si la tension de vapeur du liquide est supérieure à la somme de la pression hydrostatique et la pression acoustique. Cela signifie que plus la pression appliquée au milieu sera élevée, plus il sera difficile de provoquer de la cavitation. En effet, pour la provoquer il faudra augmenter la pression acoustique et donc augmenter l'intensité des ultrasons (Veillet, 2010).

I.2.6.5. Gaz

A chaque expansion de la bulle, le gaz dissout dans le liquide pénètre dans la bulle, et à chaque compression, du gaz est diffusé de l'intérieur de la bulle vers le liquide. La quantité de gaz diffusé entre un milieu et un autre est proportionnelle à la surface d'échange. Le flux entrant est donc supérieur au flux sortant et la bulle contient plus de gaz à l'issue de l'oscillation: c'est l'effet de surface. De plus, lors d'une phase d'expansion, la couche de liquide qui entoure la bulle est comprimée, et contient donc une plus grande concentration de gaz dissout, ce qui entraîne un gradient de concentration élevé. Cela contribue à augmenter encore le flux entrant dans la bulle pendant une phase d'expansion: c'est l'effet de couche. Ces transferts de masse dépendent donc beaucoup de la concentration en gaz dissout dans le milieu. (Izella, 2009).

I.2.6.6.Solvant

Les propriétés du liquide qui peuvent influencer sur l'effet des ultrasons sont la tension de vapeur, la tension interfaciale et la viscosité. Comme pour la température, une augmentation de la tension de vapeur du liquide facilite l'apparition de la cavitation mais réduit les pressions et les températures atteintes dans la bulle lors de son implosion. Dans une moindre mesure, la tension interfaciale et la viscosité affectent aussi le seuil de cavitation (**Izella, 2009**). Plus elle est élevée, plus la cohésion du fluide est forte et donc la cavitation sera plus difficile à obtenir. Indépendamment des ultrasons, les bulles formées sont plus petites si la tension interfaciale est élevée. La viscosité joue aussi un rôle important dans la propagation de l'onde car la viscosité augmente l'absorption de l'onde, c'est-à-dire que l'énergie acoustique est dégradée en chaleur et la zone active ultrasonore voit son volume diminuer. Mais le paramètre d'importance reste la tension de vapeur. (**Laugier, 2007**). Plus les forces de cohésion agissant dans un liquide, telles que la viscosité et la tension de surface, sont importantes, plus le phénomène de cavitation est difficile à atteindre. La viscosité est également en relation étroite avec l'amortissement de l'onde ultrasonore (**Wening et al., 1995**). Les propriétés de la vapeur du solvant interviennent aussi et leurs effets sont les mêmes que ceux du gaz (**Laugier, 2007**).

I.2.6.7.Interaction solvant/échantillon

Le choix de solvant est généralement basé sur l'obtention d'une grande affinité moléculaire entre le solvant et le soluté (**Li et al., 2004**).

I.2.6.8. Caractéristiques de Réacteur

Il est nécessaire de calculer les dimensions optimales du réacteur et la position des éléments à l'intérieur par rapport au transducteur pour atteindre le maximum d'énergie transférée au fluide (**Esclapez et al., 2010**). La géométrie du réacteur et la hauteur de solvant peuvent également influencer sur les effets sono chimiques produits, selon les réflexions des ondes ultrasonores sur les parois (**Rochebrochard d'Auzay et al., 2010**)

Chapitre II :

Etat de l'art sur le fenouil

II.1. Présentation de fenouil

II.1.1. Noms vernaculaires

"Fenouil" en français, communément appelé "Besbes" par les populations locales, il comprend plusieurs variétés sauvages aux fruits plus ou moins doux, poivrés ou amers et une variété cultivée très douce (*Foeniculum vulgare var dulce*).

Foeniculum vulgare var dulce est aussi appelé en :

Français : Fenouil doux, fenouil commun, aneth doux, long, Anis de France, Anis de Paris.

Anglais: Long sweet fennel.

Italy: Finocchio dolce, Carosella.

Kabyle, arabe: Besbes.

II.1.2. Répartition mondiale

Le fenouil doux est très cultivé en Italie (Rome, Lucques) et en France. A l'heure actuelle, la variété *dulce* est plutôt cultivée à l'Est de la Méditerranée. Il est également cultivé dans beaucoup de régions, tels que la Russie, l'Allemagne, le Japon et les Etats-Unis (Reduron, 2007).

II.1.3. Systématique

II.1.3.1. La famille des Apiacées

Les plantes de la famille des Apiacées appartiennent à l'embranchement des Spermatophytes ou Phanérogames car ce sont des plantes à graines. Les Apiacées anciennement appelées Ombellifères, comprennent environ 3.000 espèces se répartissant dans toutes les régions tempérées mais surtout dans l'hémisphère Nord. C'est une famille très homogène facile à reconnaître grâce à son inflorescence en ombelles composées. Paradoxalement, les espèces de cette famille sont assez difficiles à différencier les unes des autres. (Dupont et Guignard, 2007).

II.1.3.2. Le genre *Foeniculum*

Le genre *Foeniculum* rassemble des plantes aromatiques, à feuilles très divisées en segments capillaires, produisant des ombelles de fleurs jaunes. Il est surtout caractérisé par son fruit ovale-allongé, pourvu de côtes développées mais obtuses, les marginales un peu plus larges formant une aile étroite et épaisse (**Reduron, 2007**).

II.1.3.3. L'espèce *Foeniculum vulgare*

Selon (**Dupont et Guignard, 2007**), *Foeniculum vulgare* appartient à :

- ❖ **Embranchement** des Spermatophytes
- ❖ **Sous embranchement** des Angiospermes
- ❖ **Classe** des Astéridées
- ❖ **Sous classe** des Euastéridées II
- ❖ **Ordre** des Apiales
- ❖ **Famille** des Apiacées (ex-Ombellifères)

Foeniculum vulgare Mill, est une espèce très polymorphe dont on distingue 2 sous-espèces. La sous-espèce *piperitum*, ou Fenouil d'âne, est caractérisée par des segments glauques, charnus, généralement courts et par l'essence des fruits principalement constituée de monoterpènes, en particulier le limonène, le γ -terpinène et l'oxyde de pipériténone. La sous-espèce *vulgare* présente 3 variétés. La variété *vulgare* correspond à des Fenouils sauvages ou cultivés dont l'essence des fruits présente un rapport α -pinène / limonène supérieur à 0,4. (Fenouil amer), les variétés *dulce* (Mill.) Thell. et *azoricum* (Mill.) Thell., qui correspondent habituellement à des Fenouils cultivés annuels ou bisannuels (**Badoc et al., 1995**).

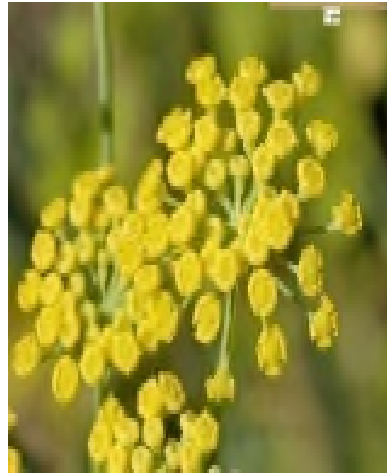
II.1.4. Description botanique et structure morphologique

C'est une plante vivace très aromatique, glabre et glauque (**Catizone et al., 1990**). C'est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle à longue **racine** fuselée. La **tige** est cylindrique et rameuse, à la fois souple et tubuleuse. Elle porte des **feuilles** alternes et pétiolées à la base. Le pétiole est pourvu d'une gaine très développée, charnue et sucrée. Les feuilles supérieures sont sessiles, glabres, à limbe bi- ou tripennatiséqué, découpé en lanières filiformes et très allongées. L'**inflorescence** est formée d'ombelles composées, longuement pédonculées et regroupant 4 à 25 rayons de longueur quasi identique.

L'involucre et l'involucelle sont absents. Les **fleurs** sont régulières, radiales, à 5 sépales formant un bourrelet, 5 pétales jaune verdâtre tronqués et roulés vers l'intérieur, 5 étamines, 2 styles courts, un ovaire infère et divisé en 2 loges. Le **fruit** est un diakène formé de 2 méricarpes (**Girre, 2006**). Les différentes parties du fenouil sont représentées dans la figure (II.1.1).



(a)



(b)



(c)



(d)

Figure II.1.1: Représentation photographique de différentes parties de fenouil

Plante entière (a), fleurs (b), bulbe (c), graines (d)

(**Gurinder et Daljit Singh, 2010**)

II.1.5. Description phytochimique et usage

Traditionnellement, le fenouil a été employé pour assaisonner les aliments, pour fabriquer des liqueurs et dans l'industrie de parfumerie (**Gross et al, 2002**). Ses feuilles supérieures finement découpées, sont rarement consommées. Le fenouil est une plante comestible et aromatique dont les graines sont employées pour des formulations savoureuses, des sauces, des liqueurs, la confiserie, etc. (**Munir Oktay, 2003**). En raison de la saveur et de l'arome uniques, La base de la plante est consommée comme légume, cuit ou cru comme salade (**Atta-Aly, 2001**). et en tant que remède contre les symptômes du tractus gastro-intestinal et respiratoire (**Raffo et al., 2011**).

Il rentre dans la composition de certains médicament, ces racines sont utilisées aussi dans la phytothérapie comme diurétique, carminatif et emménagogue, les graines et les feuilles de la base ont une action apéritive, laxative et vermifuge. Elles sont efficaces pour combattre la formation de gaz intestinaux, la nausée et le hoquet, elles activent aussi les fonctions digestives. (**kaddem, 1991**).

La plante a beaucoup d'utilisations culinaires et en médecine traditionnelle. Par exemple, les bulbes, les jeunes pousses, les feuilles, les tiges fleurissantes, les inflorescences mûres, et les graines entièrement mûres et sèches sont généralement employées pour les remèdes faits maison et qui seraient utiles dans le traitement de plusieurs malaises, spécifiquement ceux du système digestif (**Carvalho, 2005**).

Le fenouil a été également employé dans le traitement de diabète, de la bronchite, et des toux chroniques, pour le traitement des calculs rénaux, employé aussi pour ses propriétés diurétiques, Stomachique et galactogène (**Carvalho, 2005**).

II.2. Travaux antérieurs

II.2.1. Composition chimique

II.2.1.1.Composition en métabolites primaires

La composition chimique et la valeur nutritive de fenouil ont été étudiées par plusieurs auteurs. Les petites pousses, les feuilles, les tiges et les inflorescences ont été étudiés, et l'évaluation de la composition chimique à savoir : la détermination de l'humidité, le taux de matière grasse, le taux de protéine brute, la teneur en cendre, les glucides, et la valeur nutritive, a été réalisé par **(Barros et al., 2010)**.

a. Glucides

Selon **(Rather M.A. et al., 2012)**, le fenouil contient 42.3% de glucides et 18.5% de fibres. La composition en différents sucres a été déterminée par **(Barros et al., 2010)**, signalant que, le fructose et le glucose sont les sucres les plus abondants.

b. Protéines

Le fruit de *F. vulgare* contient 20 à 30% de protéines **(Girre, 2006)**.

c. Lipides

Selon **(Girre, 2006)**, le fruit de *F. vulgare* contient 9 à 21% de lipides. L'analyse de la composition en acides gras a permis la quantification de vingt acides gras. Les acides gras polyinsaturés étaient le groupe principal dans toutes les parties de fenouil; l'acide linoléique prédomine dans les petites pousses, les tiges et les inflorescences, tandis que l'acide linoléique est prédominant dans les tiges. Les teneurs les plus élevés en acides gras ω -3 sont trouvés dans les feuilles. En outre, les niveaux les plus bas en acides gras ω -3 sont trouvés dans les inflorescences **(Barros et al., 2010)**.

d. Eau minéraux et vitamines

F. vulgare contient 13.4% de minéraux **(Girre, 2006)**. Les minéraux présentes dans *F. vulgare* sont : Le calcium, le potassium, le sodium, le fer, le phosphore et les vitamines ; thiamine, riboflavine, niacine et la vitamine C **(Rather et al., 2012)** .

Pour une variété de *F. vulgare* provenant de l'ouest algérien, les teneurs des principaux composés issus du métabolisme primaire sont représentées dans le tableau (II.2.1)

Tableau II.2.1 : Valeurs des teneurs en composés appartenant au métabolisme primaire du *Foeniculum vulgare Mill.* (**Lazouni et al., 2006**).

Composés	Poids sec (%)
Glucides	13
Cellulose	40
Lipides	12
Protéine	17

II.2.1.2. Composition en métabolites secondaires

a. Huiles essentielles

Les composants principaux des huiles essentielles sont le trans-anéthol, le fenchone (présent dans la variété amer) et l'éstragole. D'autres composés apparaissent à savoir le α - pinène, α - phéllandrène et limonène. (**Barazani et al., 2002**). (**Diaaz-Maroto, 2006**) a rapporté que la concentration relative de ces composés change considérablement selon l'état et l'origine phénologiques du fenouil et que les parties vertes renferment peu de fenchone (5 %) ; les feuilles contiennent beaucoup de limonène et peu d' α -pinène et d' α -phéllandrène. Selon **Gross et al., (2009)**, le taux d'éstragole et d'anéthol est maximal dans les fleurs et les méricarpes. La structure moléculaire des huiles essentielles de fenouil est représentée dans la figure (II.2.1).

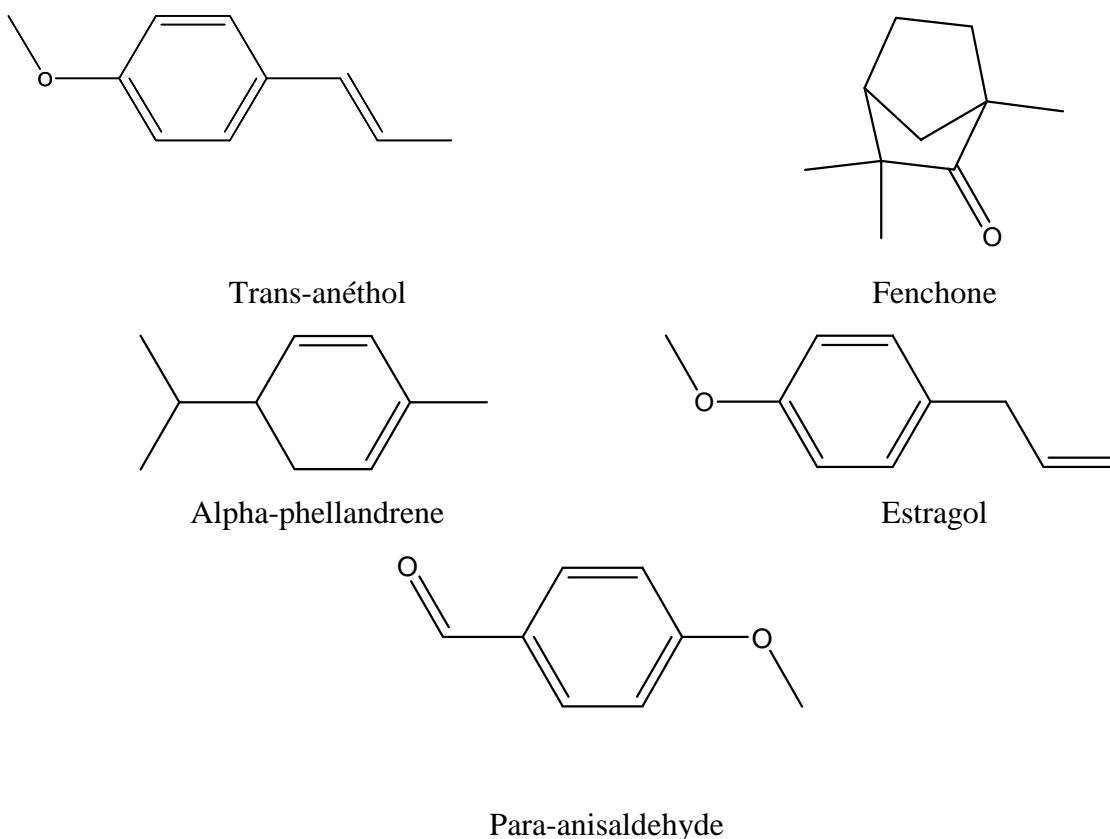


Figure II.2.1 : Structure moléculaire des huiles essentielles majeurs de *Foeniculum vulgare* (Rather et al., 2012)

b. Composés phénoliques

b.1. Acides phénoliques

Les acides phénoliques, y compris l'acide hydroxybenzoïque (C₆-C₁) et l'acide hydroxycinnamique (les dérivés de C₆-C₃) (figure II.3), peuvent être présents sous les formes solubles conjuguées avec des sucres ou des acides organiques, aussi bien que lié à des structures plus complexes telles que les tannins ou les lignins hydrolysables (Jaganath et Crozier, 2010).

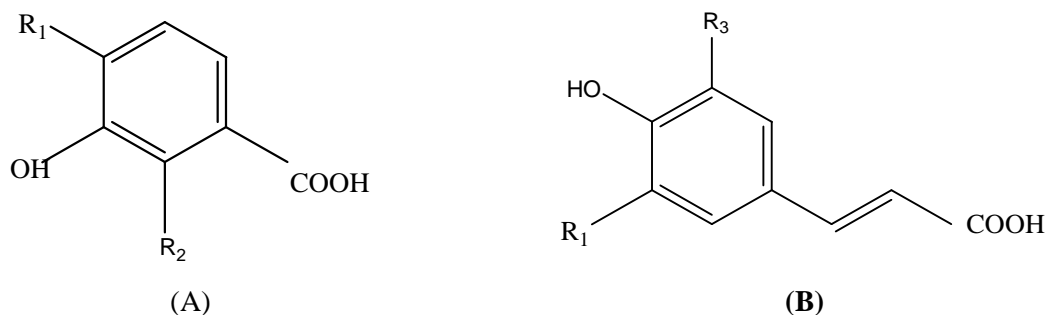


Figure II.2.2 : Structures des acides phénoliques :(A) l'acide hydroxybenzoïque (B) l'acide hydroxycinnamique.

Parejo et al. (2004 a) ont identifié 42 composés phénoliques, dont 27 ont été trouvés dans le fenouil pour la première fois. Et les activités antioxydantes des composés phénoliques principaux ont été déterminées par **Parejo. et al. (2004 b)**.

F. vulgare contient des **acides phénoliques** tels que l'acide 3-O-Cafféoylquinique, l'acide 4-O-cafféoylquinique, l'acide 5-O-cafféoylquinique, l'acide 1,3-O-di-cafféoylquinique, l'acide 1,4-O-di-cafféoylquinique, l'acide 1,5-O-di-cafféoylquinique. (**Faudale et al., 2008**) et l'acide cryptochlorogénique (**Parejo et al., 2004b**).

Des travaux antérieurs réalisés par **Roby et al. (2013)**, ont signalé que, les extraits méthanoliques de fenouil analysés par une HPLC, contiennent les acides phénoliques comme l'acide gallique, l'acide cafféique, l'acide p-coumarique, l'acide férulique et l'acide cinamique. D'autres travaux ont signaler également la présence de l'acide syringique dans le bulbe du fenouil (**Rawson et al., 2013**) et de l'acide rosmarinique (**Faudale et al., 2008**)

b.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement répandus dans le règne végétal. Ce sont des pigments quasiment universels des végétaux qui sont en partie responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles. On les trouve dissous dans la vacuole des cellules à l'état d'hétérosides ou comme constituants des chloroplastes (**Guignard, 1996**). Par définition, les flavonoïdes sont des composés qui ont en commun la structure du diphenylpropane (C6-C3-C6); les trois carbones servant de jonction entre les deux noyaux benzéniques notés A et B formant généralement un hétérocycle oxygéné C (**De Rijke et al., 2006**). Les structures de base de diverses classes des flavonoïdes sont représentées dans la figure (II.2.3)

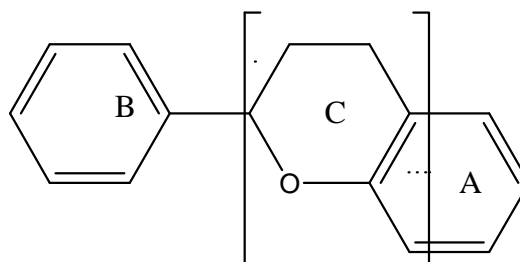


Figure II.2.3 : Structures de base des flavonoïdes.

Des flavonoïdes tels que l'eriodytyol-7-rutinoside, quercetin-3-rutinoside sont isolés de *F. vulgare* (Faudale et al., 2008). Selon Girre L, (2006). La quercetin-3-O-galactoside, kaempferol-3-O-rutinoside et kaempferol-3-O-glucoside ont été également retrouvé dans l'extrait aqueux de *F. vulgare*. Quercetin-3-O-glucuronide, kampférol-3-O-glucuronide, isoquercitine et isorhamnetin-3-O-glucoside ont été également isolé de *F. vulgare* (Parejo et al., 2004 a).

b.3. Stilbène

Les Stilbenes sont un petit groupe de phénylpropanoïdes caractérisés par un squelette 1,2-diphényléthylène (C₆-C₂-C₆) (Chong et al., 2009). La plupart des stilbènes des plantes sont des dérivés de l'unité de base du trans- resveratrol. La structure de base des stilbènes est montrée dans la figure (II.2.4). Les Stilbènes sont des phytoalexines produites par les végétaux dont la voie métabolique est comme réponse aux attaques des organismes pathogènes tels bactéries ou les moisissures (Rimando et al., 2004).

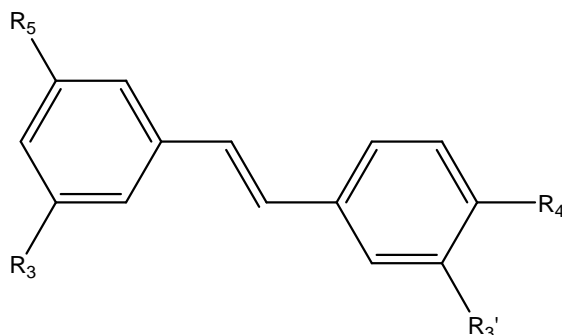


Figure II.2.4 : Structure des stilbenes (Agnieszka et al., 2013)

Selon Girre (2006) le fenouil contient des trimères de stilbènes et leurs hétérosides. Deux trimères de stilbène diglucoside (foeniculosides) et un dérivé de benzoisofuranone ont été isolés du fruit de *F. vulgare* (Simona De Marino et al., 2007) et le Miquélianine (Parejo

et *al.*, 2004b) ainsi que le cis-miyabénol, trans-miyabénol , trans-resveratrol 3-O-β-D-glucopyranoside , sinapyl glucoside et le syringin 4-O-β-glucoside (**Simona De Marino et al.**, 2007).

b.4. Tanins

Le terme tanin dérive de la capacité de tannage de la peau animale en la transformant en cuir par le dit composé. Les tanins sont un groupe des polyphénols à haut poids moléculaire. Les tanins sont des molécules fortement hydroxylés et peuvent former des complexes insolubles lorsqu'ils sont associés aux glucides, aux protéines et aux enzymes digestives, réduisant ainsi la digestibilité des aliments. Ils peuvent être liés à la cellulose et aux nombreux éléments minéraux (**Alkurd et al.**, 2008). On distingue: les tanins hydrolysables et condensés (figure II.2.5).

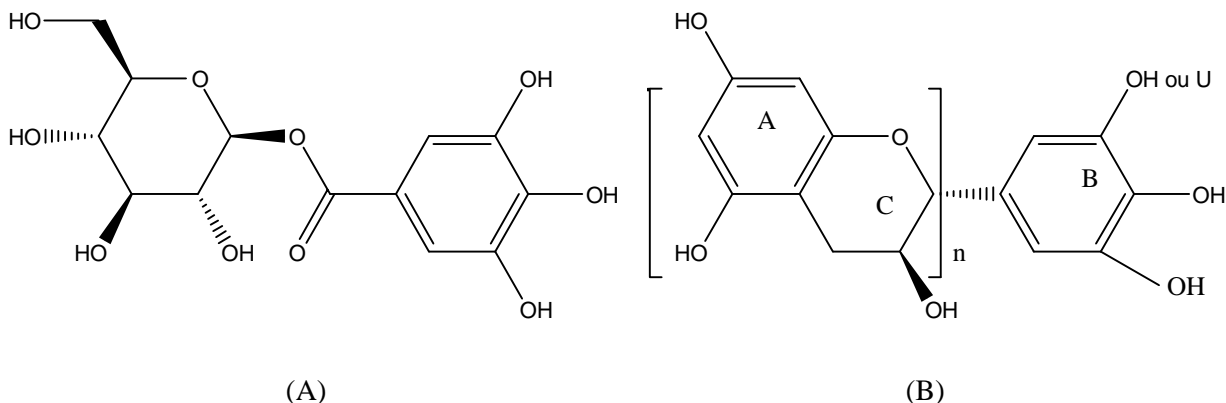


Figure II.2.5: Structure des tannins hydrolysables (A) et des tannins condensés (B).

Lazouni et al. (2006) ont montré que Les extraits aqueux et les extraits éthanolique des graines et des tiges de fenouil contiennent des tanins.

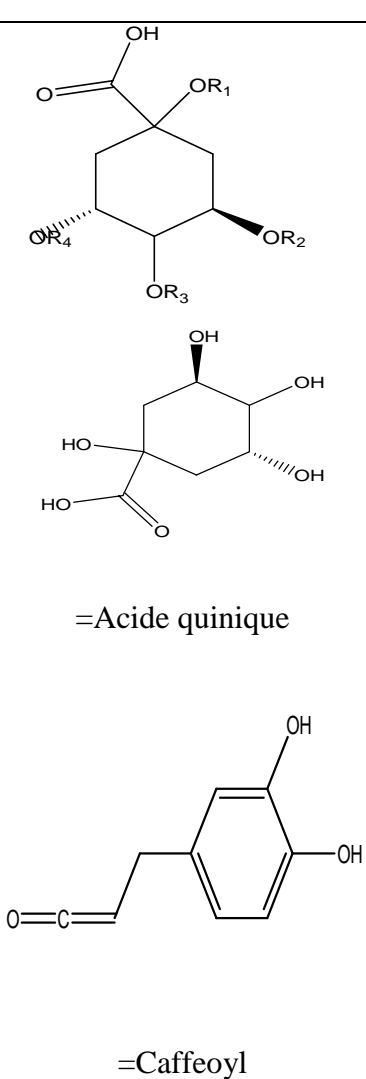
b.5. Coumarines

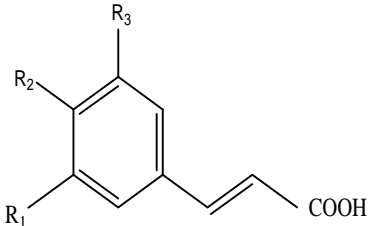
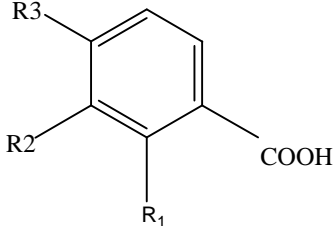
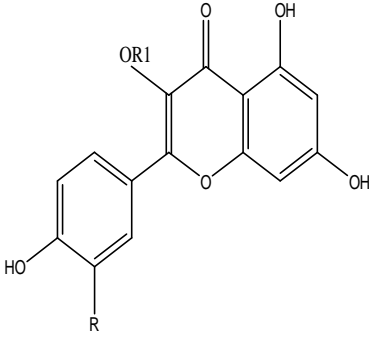
Ils sont des dérivés de C6-C3, sont des benzo-pyranes dérivées des acides hydroxycinnamiques par la cyclisation et la fermeture de l'anneau entre les groupements hydroxylique et carboxyliques. Ce groupe de composés phénoliques peut être trouvé libre ou sous la forme combinée avec des sucres comme les hétérosides et les glycosides dans beaucoup des familles dicotylédones, y compris les Apiaceae (**Vincenzo, 2013**).

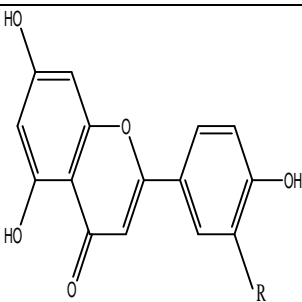
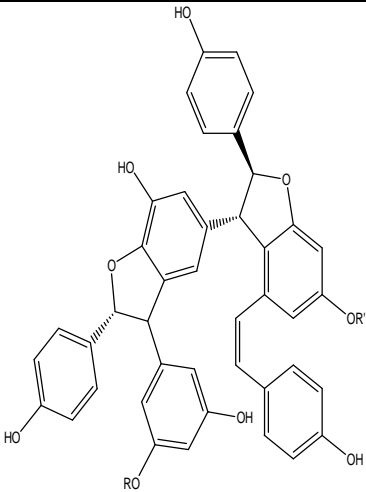
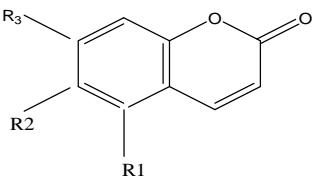
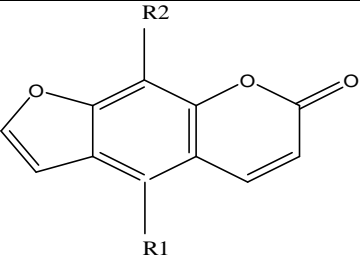
Selon **Girre (2006)**, le fenouil contient des hydroxycoumarines (osthénol, scoparine et ombélliférone) et des furanocoumarines sous forme de trace (bergaptène, impérorine et psoralène).

Le tableau (II.2.2) regroupe quelques composés phénoliques isolés à partir de *F. vulgare*

Tableau II.2.2 : Quelques composés phénoliques isolés de *F. vulgare*

Classification		Composés		Références
Classe	Dérivés	Structure	Substitutions	
Acides phénoliques	Dérivés des Acides cinnamiques	 <p>=Acide quinique</p> <p>=Caffeoyl</p>	Acide 3-O-Cafféoylquinique : R1=R3=R4=H, R2=Caffeoyl	Parejo et al, 2004b
			Acide 4-O-cafféoylquinique : R1=R2=R4=H, R3=Caffeoyl	
			Acide 5-O-cafféoylquinique : R1=R2=R3=H, R4=Caffeoyl	
			Acide 1,3-O-di-cafféoylquinique : R1=R2=Caffeoyl, R3=R4=H	
			Acide 4-O-di-cafféoylquinique : R1=R3= Caffeoyl, R2=R4=H	
			Acide 1,5-O-di-cafféoylquinique : R1=R4=Caffeoyl, R2=R3=H	

			<p>Acide p-coumarique R1 = R3 = H, R2 = OH</p> <p>Acide férulique: R1 = OCH3, R2 = OH, R3 = H</p> <p>Acide cinnamique: R1 = R2 = R3 = H</p>	<p>Roby et al., 2013</p>
	Dérivés de l'acide salicylique		<p>Acide gallique R1 = R2 = R3 = OH</p>	
Flavonoïdes	Flavonols		<p>Quercétin-3-O-galactoside : R=OH, R1=galactose</p> <p>Kaempférol-3-O-rutinoside : R=H, R1=glucose-rhamnose</p> <p>Kaempférol-3-O-glucoside : R=OH, R1=glucose</p> <p>Quercétin-3-O-gluctoside (isoquercetin): R=OH, R1=glucose</p>	<p>Parejo et al., 2004 a</p>

	Flavones		Apigénine: R = H	Roby et al., 2013 Bruneton, 1993
Stilbènes	Stilbène diglucoside		Foeniculoside : R=glucose, R'=glucose Cis-miyabenol C 11a-O-β-D-glucopyranosyl-(1-6) glucopyranoside : R=glucose-glucose, R'=H.	Simona De Marino et al., 2007 Rather et al., 2012
Coumarines	Hydroxycoumarines		Ombélliférone: R1 = R3 = H, R2 = OH	Girre, 2006 Bruneton, 1993
	furanocoumarines		Bérgaptène : R1 = OCH3, R2 = H	

II.2.2. Activités biologiques

Les huiles essentielles et les polyphénols sont les principaux composés responsables de multiples activités biologiques et thérapeutiques, des études antérieures ont prouvé l'implication de ces composés dans plusieurs activités biologiques telles que l'activité antioxydante, antimicrobienne, anti-inflammatoire...,etc.

II.2.2.1. Activité antioxydante

De nombreux travaux ont signalé l'activité antioxydante de fenouil. La rutine, l'acide di-cafféoylquinique et l'acide rosmarinique des fruits de fenouil, contribuent à l'activité antioxydante de cette plante (**Oktay et al., 2003**), l'activité antioxydante et la capacité scavenger des composés phénoliques issus des sous produits de fenouil ont été étudiées par **Parejo et al, (2004 a)**. Une autre étude réalisée par **Roby et al, (2013)** confirme la grande activité antioxydante de fenouil associée à sa teneur élevée en polyphénols. **Salama et al, (2015)** ont également observé une forte activité antioxydante des extraits méthanoliques de fenouil doux qui peut être due à la présence des acides phénoliques, flavonoïdes, la vitamine C ainsi qu'aux autres constituants actifs de cette plante.

II.2.2.2. Activité antimicrobienne

Les travaux de **Roby et al, (2013)** ont montré que l'activité antimicrobienne de graines de fenouil est liée à sa richesse en huiles essentielles en identifiant aussi 15 mono-terpènes majeurs de la plante.

a. Activité antibactérienne

Les extraits acétoniques et méthanoliques de *F. vulgare* ont un effet bactéricide sur des souches bactériennes impliquées dans plusieurs infections humaines (*Klebsiella pneumoniae*, *Leclercia*, *Pantoea*, *Enterobacter spp*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter agglomerans*, *Serratia*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus* et *Listeria innocua*). Les extraits hexanique présentent un effet bactériostatique sur *Enterobacter agglomerans* et sur *Staphylococcus aureus* (**Ennadir et al., 2014**), ce constat confirme celui déduit par **Dadalioglu et Evrendilek. (2004)** qui ont signalé que *F. vulgare* présente une très forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*.et par **Roby et al. (2013)** qui ont montré que les huiles essentielles des graines de fenouil ont un effet antibactérien contre *Bacillus cereus* et *Staphylococcus aureus*.

b. Activité antifongique

Des études antérieures ont montré l'action antifongique des huiles essentielles des extraits de fenouil sur *Aspergillus flavus* et *Candida albicans* (**Roby et al., 2013**). Une étude in vitro a permis d'évaluer l'efficacité antifongique de *F. vulgare* sur *candida albicans*. Ces résultats montrent l'utilisation potentielle de ces produits comme adjuvants pratiques et économique pour les produits pharmaceutiques antifongiques (**Mithun, 2010**).

II.2.2.3. Activité anti-inflammatoire

L'administration orale d'extrait méthanolique des fruits de *F. vulgare* montre un effet inhibiteur contre les maladies inflammatoires aiguës et subaiguës et un effet analgésique central. (**Choi et Hwang, 2004**)

II.2.2.4. Activité oestrogéniques

Le fruit de fenouil a fait la démonstration de ses propriétés oestrogéniques selon les critères établis par **Vanrullen et al, (2005)**. Une étude clinique a été menée par **Ghods et Asltoghiri, (2014)** afin d'évaluer l'efficacité de fenouil sur les symptômes de la dysménorrhée primaire et la durée menstruelle, cette étude a démontré que le fenouil doux peut réduire les douleurs menstruelles en abaissant le niveau de prostaglandine dans le sang.

II.2.2.5. Effet sur la digestion

Une étude épidémiologique basée sur des analyses chimiques a permis la quantification de la teneur totale en estragole dans les échantillons de thé de fenouil proposés pour le traitement symptomatique des troubles digestifs (**Suzanne et al., 2014**).

II.2.2.6. Effet vasculaire

Abdulghani et Amin (1988) ont étudié l'effet vaso-protecteur de l'extrait aqueux des feuilles de fenouil qui inhibe l'effet hypotenseur chez les rats.

II.2.2.7. Effet sur la contraction utérine

Les huiles essentielles de fenouil ont été choisies pour une étude sur la contraction de l'utérus chez la rate. L'administration de différentes doses des huiles essentielles de fenouil réduit les contractions induites par l'ocytocine et la prostaglandine (**Ostad et al., 2001**)

II.2.2.8. Effet bronchodilatateur

Les huiles essentielles de l'extrait alcoolique de *F. vulgare* testé sur le porc ; montrent une activité bronchodilatatrice (**Boskabady et al., 2004**).

II.2.2.9. Activité hépato-protectrice

F. vulgare présente une activité hépato-protectrice puissante chez le rat. L'hépatotoxicité induite a été jugée inhibée par l'huile essentielle de *F. vulgare* (**Ozbek et al., 2003**).

II.2.2.10. Effets sur la mémoire et la cognition

Il existe certaines preuves en faveur de l'utilisation de *F. vulgare* pour le traitement des troubles cognitifs tels que la névrose et la maladie d'Alzheimer. L'extrait méthanolique de la plante entière de *F. vulgare* améliore l'effet amnésique sur les déficits de mémoire induits chez les souris. (**Joshi et al., 2006**)

II.2.2.11. Effets antimutagènes

L'extrait de *F. vulgare* a également montré un effet antimutagène qui reflète son activité pour améliorer le système de réparation de l'ADN (**Tripathi et al., 2013**)

II.2.2.12. Activité galactogène

F. vulgare est un galactagogue grâce à son constituant principal, l'anéthol qui présente une similarité structurale à la dopamine qui inhibe la sécrétion la prolactine. L'anéthol pourrait influencer la sécrétion du lait par compétition avec la dopamine aux sites récepteurs appropriés, inhibant ainsi l'action antigalactogène de la dopamine sur prolactine (**Albert-Puleo, 1980**).

Plusieurs autres études effectuées sur le fenouil, sont regroupées dans le tableau (II.2.3).

Tableau II.2.3 : Travaux antérieurs effectués sur le fenouil

Travaux	Références
Activité anti hypertensive	Ono et al., 1996
Activité Anti-hirustisme	Javidnia et al., 2003
Activité hépatoprotective	Ozbek et al., 2003
Activité acaricide	Lee, 2004
Activité anti thrombotique	Tognolini et al., 2007
Effets diurétique	Wright et al., 2007
Activité antimicrobienne	Kaur et Arora, 2008
Activité anti tumorale	Pradhan et al., 2008
Activité antifongique	Pai et al., 2010
Activité antioxydante	Shahat et al., 2011
Activité antidiabétique	El-Soud et al., 2011

II.2.3. Extraction à partir de *Foeniculum vulgare*

Les travaux antérieurs sur le fenouil font toujours appel à une étape primordiale qui est l'extraction. Les procédures d'extraction de quelques études effectuées sur *Foeniculum vulgare* sont résumées dans le tableau II.4 illustrant la méthode d'extraction utilisée, la molécule d'intérêt extraite, la ou les parties de la plante consacrées à l'étude ainsi que les conditions opératoires caractérisant l'extraction à savoir le solvant, la température et le temps d'extraction

Tableau II.2.4 : Travaux antérieurs sur l'extraction à partir de *Foeniculum vulgare*

Extrait	Partie	Méthode	Solvant	Température et temps	Référence
Polyphénols	Plante (250g)	UAE (Bain ultrason)	Méthanol 20% (25 ml)	25°C/20min	Parejo et al., 2004 a
Antioxydants	Graines (25 g)	Agitation	Eau(0,5 l) Ethanol(0,5 l)	100°C/15 min	Munir Oktay et al., 2003
Polyphénols glycosilés	graines (225 g)	Epuisement par différent solvants	Méthanol n-hexane n-Butanol Ethanol	Température ambiante	Simona De Marino et al., 2007
Polyphénols totaux	Bulbe (10g)	Maceration	Méthanol 80% (100 ml)	48 h.	Salama et al., 2015
polyacétylènes	Bulbe (1g)	Extraction accéléré par solvant	Acétonitrile	80 °C	Rawson et al., 2013
polyphénols	Graines, tiges et racines	Extraction par solvant	Eau, éthanol et éther diéthylique	/	Lazouni ,2006
polyphénols	Plante (250mg)	UAE (Bain ultrason)	Methanol 20% (25mL)	Température ambiante /30 min	Krizman, et al., 2007
Phénols et flavonoïdes	Bulbes, feuilles, tiges et inflorescences(1g)	Agitation (150 rpm)	Méthanol (50 ml)	25 °C/12h	Barros, et al., 2009
Colorants	Feuilles (5g)	Macération	Eau (100 ml)	70°C/45 min (pH 2)	Haddar et al., 2014

Phénylpropènes	Inflorescences, feuilles, fleurs, fruits et racines)	Macération	Hexane	2,5h/ Température ambiante	Gross et al., 2009
-Antioxydants -Huiles essentielles	Plante -20g -100g	- Macération - Hydrodistillation	-Méthanol, éthanol, diethyl ether et hexane (200 ml) -Eau	- Température ambiante/7 2h -6h	Roby et al., 2013
Huiles essentielles	Graines (5g)	-Soxhlet -Extraction accélérée par solvant (ASE)	méthanol (15 mL)	Température d'ébullition de méthanol 64.70°C/ 30min	Rodríguez-Solana, 2014
Huiles essentielles	Bulbes, feuilles, tiges et inflorescences	Hydrodistillation	Vapeur d'eau	4h	Akgull et Bayrak, 1988
Huiles essentielles	Graines (500 g)	Hydrodistillation	Vapeur d'eau	4h	Diao et al., 2014
Huiles essentielles	Graines (0.8 g)	CO ₂ supercritique	CO ₂	40 °C/23,2 min (pression 81 bar)	Simandi, 1999
Huiles essentielles	Graines (100 g)	Hydrodistillation	Eau (2l)	3h	Ghouati et al., 2014

Huiles essentielles	Racines, feuilles et graines	UAE (Bain ultrason)	Pentane	1h	Guilliin et Manzanos , 1996
Huiles essentielles	Graines (50g), feuilles, tiges et inflorescences (100 g)	Hydrodistillati on	Vapeur d'eau	3h	Stefanini, et al., 2006
Huiles essentielles	Graines - 15 g -0.10 kg - 0.002 kg	-Soxhlet - hydrodistillati on -fluide supercritique	-Ethanol 96% (80mL) - Eau -CO2 supercritique	-3 h -120 min. - 40 °C/4h (300 bar)	Lucinewt on et al ., 2005
Huiles essentielles	Feuilles (1000 g)	Hydrodistillati on	Eau	3 h	Senatore et al., 2013
Glucides Lipides	Bulbes, feuilles, tiges et inflorescences (1.0 g)	Macérati on	Ethanol (80%40 ml)	80°C/30min	Barros et al., 2010
Lipides	Graines	Soxhlet	Hexane	6 h	Bryan et al., 2014
jus	Bulbe -6.5g -200g -30g	-Champs électrique pulsé -Décharge électrique -Irradiation ultrasonique - agitation	Eau (Ration liquide/solide =2)	Température ambiante (20°C)	Moubarik , et al., 2011

Partie

Expérimentale

Chapitre III

Matériels

et

Méthodes

III.1. Matériel végétal

III.1.1. Choix de la matrice

Les déchets agricoles de fenouil (partie aérienne de la plante) et les déchets industriels de transformation (boissons à base de fenouil, fenouil découpé prêt à utiliser...etc.) constituent une source non compétitive avec les sources d'origine alimentaire, de métabolites bioactifs à haute valeur ajoutée, c'est dans ce contexte et dans le but d'élargir les perspectives de valorisation des sous-produits naturels, le fenouil a été choisi pour la présente étude.

III.1.2. Origine

Les déchets de fenouil utilisés dans la présente étude (Figure III.1) ont été fournis par un commerçant de fruits et légumes situé à la wilaya de Bejaïa.



(a)



(b)

Figure III.1 : Photographie de *F. vulgare*

Bulbe de fenouil (a) Partie aérienne de fenouil (b)

III.1.3. Traitements du matériel végétal

Les déchets de fenouil ont été lavés sous l'eau courante, puis avec de l'eau distillée, afin d'éliminer toutes les impuretés. Les déchets ont été triés manuellement en séparant les feuilles des tiges. Les feuilles ainsi récupérées ont fait l'objet de cette étude.

III.1.3.1. Détermination du taux d'humidité

Le principe de la détermination de l'humidité des feuilles consiste à prendre une masse M_1 (en triple) de l'échantillon et l'apporter à une température de 103°C à l'étuve jusqu'à ce que la masse devienne constante

L'humidité est calculée selon la formule suivante :

$$H\% = \frac{M_1 - M_2}{M_1} \times 100 \dots \dots \dots (III.1)$$

D'où:

H% : Taux d'humidité en pourcentage.

M_1 : Masse de l'échantillon avant séchage.

M_2 : Masse de l'échantillon après séchage.

$$\text{Matière sèche}\% = 100 - H\% \dots \dots \dots (III.2)$$

III.1.3.2. Séchage

Les feuilles de *F. vulgaire* ont été séchées au micro-onde à une puissance de 300 W jusqu'à l'obtention de taux de matière sèche calculé par la relation (III.2).

III.1.3.3. Broyage

Une fois les feuilles séchées, la matière végétale est broyée à l'aide d'un broyeur électrique.

III.1.3.4. Tamisage et conservation

Les poudres obtenues après broyage ont été tamisées avec un tamiseur électrique, afin d'obtenir une poudre fine et homogène de granulométrie inférieure à $125 \mu\text{m}$. Enfin, cette dernière est conservée dans des bocaux en verre hermétiquement fermés et stockés à l'abri de la lumière.

III.1.3.5. Détermination de l'activité de l'eau (AW)

L'activité de l'eau de la poudre est mesurée avec un a_w mètre. Une masse de la poudre a été placée dans la chambre d'échantillonnage, dans une coupelle fermée par un couvercle. Après 5 minutes, les mesures ont été lues.

III.2.Optimisation des conditions d'extraction

III.2.1. Etudes préliminaires

Des études préliminaires ont été effectuées pour déterminer les conditions optimales de MAE et de l'UAE

III.2.1. 1. Choix de la nature et la concentration du solvant d'extraction

L'extraction par micro-onde a été réalisée en utilisant le méthanol 50%, l'éthanol 50% et l'acétone 50% (V/V). Le temps a été fixé à 30 Sec et la puissance des micro-ondes a été réglée à 500 W.

Pour UAE, l'extraction a été réalisée en utilisant cinq types de solvants à des proportions de 50% (V/V) : acétone, acétonitrile, méthanol, éthanol et l'eau. Le temps d'extraction et l'amplitude ont été fixés à 10min et 40% respectivement. Le meilleur solvant a été choisi sur la base du résultat de la teneur la plus élevée en polyphénols totaux (exprimée en mg EAG/g de poudre). La meilleure concentration du solvant a été déterminée en utilisant le meilleur solvant choisi pour les deux méthodes d'extraction, à des concentrations de 30, 50 et 80 % (v/v). La meilleure concentration a été choisie en se basant aussi sur la teneur la plus élevée en polyphénols totaux.

III.2.1. 2. Temps d'extraction

L'impact du temps d'extraction (30, 60, 90 et 120 Sec pour MAE) et (5,10, 15, 20, 25 et 30 minutes pour UAE) a été également étudié en utilisant le meilleur solvant et à la concentration qui a donné le meilleur résultat. Le meilleur temps d'extraction a été choisi selon la teneur la plus élevée de l'extrait en polyphénols totaux.

III.2.1. 3. Puissance (MAE)

Dans cette étape, les deux paramètres précédents : % solvant, le temps d'extraction ont été fixés toute en variant la puissance (100, 300, 500, 700 et 900%). La meilleure puissance a été choisie sur la base de la valeur la plus élevée en polyphénols totaux.

III.2.1.4. Amplitude (UAE)

L'effet de l'amplitude (20, 40, 60, 80 et 100%) a été étudié et la meilleure valeur a été choisie en se basant sur les résultats les plus élevées en composés phénoliques totaux.

III.2.1.5. Ratio solide/liquide

Nous avons procédé à la détermination du ratio (solide/liquide), en fixant le solide (1g de la poudre) et en variant le liquide : 20, 30, 40, 50 et 60 ml. Les autres paramètres déterminés précédemment ont été fixés. Le meilleur ratio d'extraction a été choisi sur la base de la valeur la plus élevée en polyphénols totaux.

III.2.1.6. Mode de pulsation (UAE)

Enfin, en fixant les paramètres précédents, l'extraction est réalisée en utilisant deux modes de pulsation : 10min en discontinu (pulsation=10 Sec, OFF=10 Sec et pulsation=5 Sec, OFF=5 Sec) et 10min en continu. Le mode de pulsation a été choisi en fonction de la teneur en polyphénols totaux.

III.2. 2. Application du plan d'expérience

L'optimisation de la méthode d'extraction est réalisée en employant le plan de Box-Behnken de trois niveaux, pour évaluer l'effet combiné de quatre variables indépendantes : % solvant, le temps, la puissance (MAE), l'amplitude (UAE) et le ratio solide -liquide qui sont désignés par X1, X2, X3 et X4 respectivement.

Les études préliminaires effectuées, ont permis de déterminer les niveaux bas et haut pour les variables influençant l'expérimentation. Ces derniers sont illustrés dans les tableaux (III.1) et (III.2):

Tableau III.1: Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par micro-ondes.

Les variables indépendantes	Niveaux des facteurs		
	-1	0	+1
X1: Ethanol (%)	30	75	100
X2: Temps (S)	30	75	120
X3: Puissance (W)	500	700	900
X4:Ratio Solide/ liquide (mg/ml)	20	30	40

Tableau III.2: Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant l'extraction assistée par ultra-sons.

Les variables indépendantes	Niveaux des facteurs		
	-1	0	+1
X1: Ethanol (%)	30	75	100
X2: Temps (min)	5	10	15
X3:amplitude (W)	60	80	100
X4:Ratio Solide/liquide (mg/ml)	20	30	40

Ces paramètres ont été étudiés de manière à optimiser trois réponses : Le taux des polyphénols totaux, les flavonoïdes et l'activité antioxydante par le test d'inhibition du radical DPPH.

Selon la formule : $N = 2k(k - 1) + C_p \dots \dots (III.3)$; 27 essais ont été réalisés ; pour les deux modes d'extraction ; de manière à pouvoir estimer le model mathématique des réponses investiguées.

Où :

N : est le nombre d'expériences.

k : est le nombre de facteurs.

C_p : est le nombre de points centraux (Bezerra et al., 2008).

La méthodologie des surfaces de réponses permet de modéliser les réponses étudiées sous forme d'une équation polynomiale du second degré présentée ci-dessous :

$$y = B_0 + \sum_{i=1}^k B_i x_i + \sum_{i=1}^k B_{ii} x_i^2 + \sum_{i>j}^k B_{ij} x_i x_j + E \dots \dots \dots (III.4)$$

Où :

Y représente la réponse étudiée (dans notre cas, y représente CPT, flavonoïdes et le % d'inhibition de DPPH); B_0 est un coefficient constant; B_i , B_{ii} et B_{ij} sont des coefficients des limites linéaires, quadratiques et interactives, respectivement, et le x_i et x_j représentent les variables indépendantes codées et E représente l'erreur expérimentale.

III.3.Procédures de l'extraction

L'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des feuilles de fenouil a été réalisée par trois méthodes, à savoir l'MAE, l'UAE et l'extraction conventionnelle (EC).

III.3.1. Extraction assisté par micro-ondes

Les polyphénols ont été extraits à partir des feuilles de fenouil en utilisant un four à micro-onde multi-mode qui fonctionne à une fréquence de 2450kHz et une puissance de sortie maximale de 1000W avec une incrémentation de 100W. La dimension de la cavité de chauffage est de (22.5 cm × 37.5 cm × 38.6 cm) (Figure III.2). Le solvant a été additionné à 1g d'échantillon dans des ballons à fond plat. Le mélange a été irradié puis filtré en utilisant un filtre de diamètre 4 μ m. Les extraits ont été conservés à 4°C jusqu'aux analyses et dosages ultérieurs. 27 essais ont été réalisés avant d'obtenir l'optimum, puis une extraction dans les conditions optimales obtenues par MSR a été réalisée.

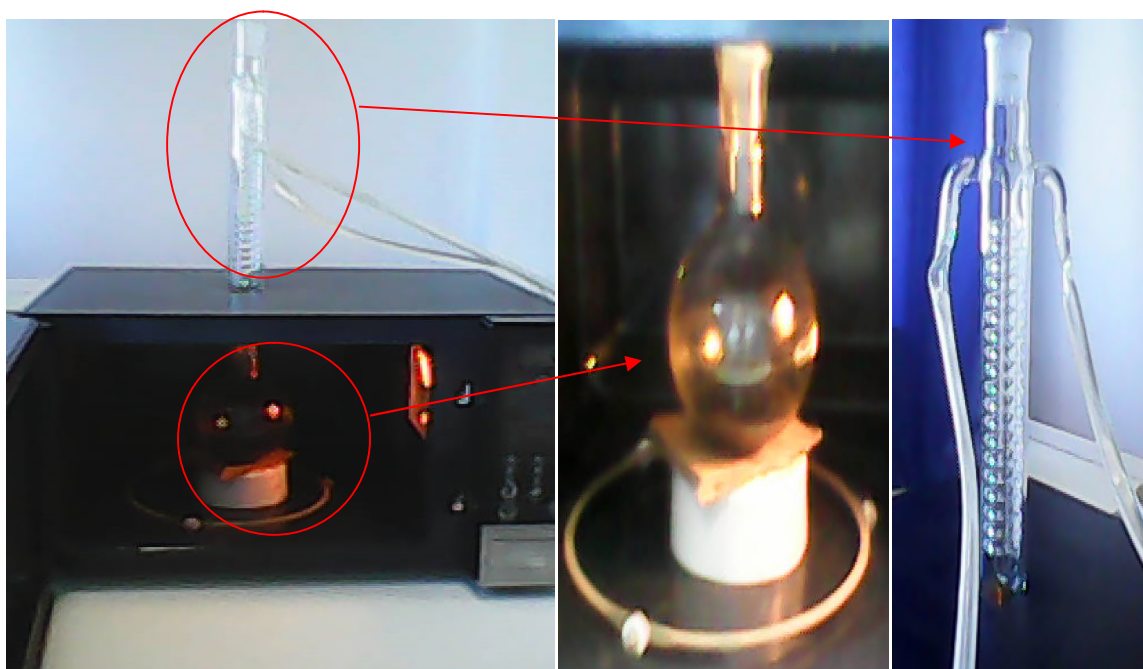


Figure III.2 : Matériels utilisés pour MAE

III.3.2. Extraction assisté par ultrasons

Les composés phénoliques des feuilles de fenouil sont extraits, en utilisant un sonificateur (figure III.3) qui fonctionne à une fréquence de (50 Hz) et une puissance maximale de (130 W). 1g d'échantillon a été mélangé avec le solvant dans un bécher de (150 ml) placé dans un bain de glace. La température au cours de l'extraction a été mesurée à l'aide d'une sonde (Datalogueur) et l'historique thermique de chaque extraction est représenté dans annexe (II). Les extraits obtenus ont été filtrés par un papier filtre (4 μ m de diamètre) puis conservés à 4°C pour les analyses ultérieurs. 27 essais ont été réalisés, puis une extraction dans les conditions optimales obtenues par MSR a été réalisée.

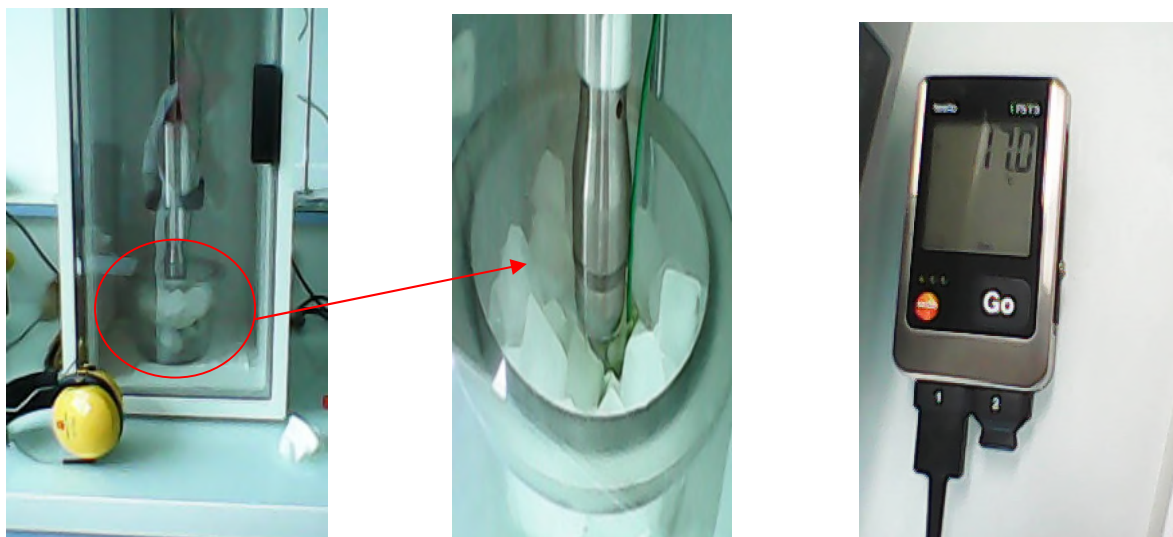


Figure III.3: Matériels utilisés pour l'UAE

III.3.3. Extraction conventionnelle

Une extraction conventionnelle par agitation, pendant 60 min à température ambiante (Dahmoune *et al.*, 2013) a été réalisée pour permettre la comparaison avec les MAE et UAE. En utilisant le solvant qui a donné les meilleurs résultats dans les extractions précédentes.

III.4. Dosage des composés phénoliques

III.4.1. Dosage des phénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été fait selon la méthode décrite par (Singleton et Rossi, 1965). Un volume de 500 μl d'extrait a été additionné de 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué à (1/10). Après 2 mn d'incubation à l'obscurité, 2 ml de carbonate de sodium (75%) sont ajoutés. L'absorbance a été mesurée au spectrophotomètre à 760 nm après 15 minutes d'incubation au bain marie à 50°C et refroidissement direct dans un bain de glace, le dosage est effectué en triple. La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage (annexe I), établie avec le standard étalon d'acide gallique et exprimée en milligrammes équivalents d'acide gallique par gramme de poudre (mg EAG/g).

III.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de former avec le groupement (CO) un complexe jaunâtre en présence de chlorure d'Aluminium (Ribereau-Gayon, 1968). La détermination de la quantité des flavonoïdes

totaux contenue dans les extraits de *F. vulgare* a été réalisée par la méthode colorimétrique décrite par **Khennouf, et al., (2010)**. La teneur en flavonoïdes contenue dans l'extrait est calculée par référence à une courbe d'étalonnage (annexe I), établie avec le standard étalon de Rutine et exprimée en milligrammes d'équivalents de Rutine par gramme de la poudre (mg ER/g).

III.4.3. Dosage des tanins

Le dosage des tanins a été déterminé par la méthode au Butanol-HCL développée par **(Iqbal, 2011)**, basée sur la réaction de dépolymérisation des tanins condensés en milieu acide, cette dépolymérisation conduit à la libération des anthocyanidine qui sont des molécules colorées correspondantes aux monomères clivés. Une quantité de 250ul d'extrait a été additionné à 2,5ml de solution acide de sulfate de fer (75mg de sulfate d'ammonium ferrique $Fe_2(SO_4)_3$ dissous dans 500ml de n-butanol- HCL 3:2) puis le mélange a été incubé à 95°C pendant 50min. L'absorbance du mélange a été lue à 530nm. La teneur en tanins a été calculée par la formule suivante et les résultats on été exprimés en (mg/ml):

$$C_T = A * FD * PM * 1000 / \epsilon \dots \dots \dots (III. 5)$$

Avec

C_T : Concentration des tanins en mg/l ;

A : Absorbance à 530nm ;

FD : Facteur de dilution ;

PM : Masse molaire de la cyanidine qui est de 287,24g/mol.

III.5. Dosage de la chlorophylle a, b, et caroténoïdes

Le dosage de la chlorophylle et des caroténoïdes a été réalisé selon la méthode décrite par **Lichtenthaler, (1982)**. Elle est basée sur la mesure des absorbances à différentes longueurs d'ondes des extraits dilués à (1/10): 664 nm pour la chlorophylle *a* ; 648 nm concernant la chlorophylle *b* et 470 nm pour les caroténoïdes. Les concentrations de la chlorophylle *a* (C_a (ug/ml)), chlorophylle *b* (C_b (ug/ml)) et des caroténoïdes (C_{x+c} (ug/ml)) dans les extraits ont été calculées selon les formules suivantes :

$$C_a \text{ (ug/ml)} = 13,36A_{664,1} - 5,19A_{648,6} \dots \dots \dots (III. 6)$$

$$C_b \text{ (ug/ml)} = 27,43A_{648,6} - 8,12A_{664,1} \dots \dots \dots (III. 7)$$

$$C_{x+c} \text{ (ug/ml)} = (1000A_{470} - 2,13C_a - 97,64C_b) / 209 \dots \dots \dots (III. 8)$$

III.6. Détermination de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante des extraits de feuilles de *F. vulgare* a été déterminée selon deux méthodes, la première est l'estimation du pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques et la deuxième évalue le pouvoir antiradicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation des radicaux (DDPH° et ABTS^{o+}) par les antioxydants présents dans les extraits.

III.6.1. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe³⁺) du complexe [FeCl₃/K₃Fe(CN)₆] en fer ferreux (Fe²⁺). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (Shon, et al., 2003). Un volume de 0,5 ml d'extrait a été mélangé à 2,5 ml de solution tampon phosphate (0,2 M, pH 6,6) et à 2,5 ml de ferricyanide de potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50°C pendant 20 minutes. En suite, 2,5 ml de l'acide trichloracétique (10%) ont été ajoutés au mélange. Un volume de 2 ml a été prélevé du mélange auquel ont été ajoutés 2 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique FeCl₃ (0,1%), l'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 700 nm (Pan et al., 2010). Les résultats ont été exprimés en absorbance.

III.6.2. Test au radical DPPH°

L'activité anti-radicalaire des extraits a été déterminée en utilisant le radical DPPH (Dudonné et al., 2009). A température ambiante et en solution, le radical DPPH (2,2 diphenyl,1-picrylhydrazyle) présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électriques par un antioxydant s'accompagne de la disparition de la couleur violette (Boulekbache et al., 2013). Pour 100 ul d'extrait, 3ml de solution DPPH° (60 uM) ont été ajoutées. Après une incubation de 20 mn à obscurité, l'absorbance a été mesurée à 515nm. Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH par la formule suivante :

$$\% \text{ inhibition} = [(A(\text{Contrôle}) - A(\text{Echantillon})) / A(\text{Contrôle})] \times 100 \dots \dots \dots (III. 9)$$

Avec :

A(Contrôle) est l'absorbance de la solution de DPPH et solvant d'extraction ;

A(Echantillon) est l'absorbance de l'extrait.

III.6.3. Pourcentage d'inhibition de l'ABTS^{o+}

A une température ambiante et en solution le cation radical ABTS^{o+} (l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonique)), présente une coloration bleuâtre due à la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques par un antioxydant s'accompagne d'une décoloration (Re R. *et al.*, 1998). 10 µl d'extrait ont été additionnés à 4 ml de solution d'ABTS diluée. Après incubation à l'obscurité pendant 6 minutes, l'absorbance a été mesurée à 730nm (Sanchez *et al.*, 2002). Le pouvoir anti-radicalaire de l'extrait a été exprimé en pourcentage d'inhibition du radical ABTS par la relation (III.9) dont A (Contrôle) est l'absorbance de la solution d'ABTS et solvant d'extraction

III.6. analyse statistique

Tout les dosages ont été effectués en triple et les résultats sont exprimées en (moyenne \pm SD). Ces différents tests ont été complétés par une étude statistique de la variance par (ANOVA) selon le (Test de Tukey).

Un logiciel JMP (Version 7.0, SAS) a été utilisé pour construire le plan d'expérience de (BBD) pour l'analyse de tous les résultats.

L'étude des corrélations a été réalisée, en utilisant la matrice de corrélation, à l'aide de logiciel STATISTICA 5.5.

Chapitre IV :
Résultats
et
Discussion

IV.1. Taux d'humidité et activité d'eau

Le taux d'humidité de l'échantillon frais de *F. vulgare*, est représenté dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV.1 : Taux d'humidité des feuilles de *F. vulgare*

	Taux d'humidité (%)
Feuilles de <i>F. vulgare</i>	86

Le résultat obtenu par **Barros et al. (2010)** a montré que le taux d'humidité des feuilles d'une variété du Nord Est du Portugal est de **76.36 %**. Une autre étude sur une variété de fenouil sauvage (plante entière) provenant de l'ouest algérien, a montré un taux d'humidité de **76,5 % (Lazouni et al., 2006)**. Ces différences sont probablement dues aux différences environnementale entre les régions (**Bensadon et al., 2010**).

Les résultats de l'activité de l'eau (a_w) et taux d'humidité de la poudre des feuilles de *F. vulgare* analysée sont illustrés dans le tableau (IV.2)

Tableau IV.2: Taux d'humidité et activité de l'eau de la poudre des feuilles de *F. vulgare*

	H (%)	Aw	Température (°C)
Poudre <i>F. vulgare</i>	7	0,21	20,2

D'après le résultat obtenu, le taux d'humidité résiduelle de la poudre des feuilles de *F. vulgare* est de 7% et son activité d'eau n'est que de 0.21. Cette faible teneur en eau permet de mieux conserver les propriétés antioxydantes des composés phénoliques totaux présents dans la poudre.

IV.2. Extraction assistée par micro-onde

IV.2. 1. Etudes préliminaires

Les études préliminaires permettent la détermination des niveaux inférieurs et supérieurs des variables du plan expérimentale utilisé à fin de sélectionner un intervalle approprié pour l'extraction des CPT pour chaque variable indépendante. Les résultats des analyses préliminaires de MAE sont représentés dans le tableau (IV.3)

Tableau IV.3: Résultats des analyses préliminaires pour MAE

Solvant Type	% Ethanol		Temps d'irradiation		Puissance de micro-onde		Ratio solide/liquide		
	(mg EAG/g)	%	(mg EAG/g)	Sec	(mg EAG/g)	W	(mg EAG/g)	g/ml	
Acétone 50%	14,27± 0,14 ^a	30	10,00± 0,29 ^c	30	9,10±0,09 ^c	100	11,29±0,18 ^d	1/20	12,61±0,17 ^d
Méthanol 50%	11,88± 0,16 ^c	50	12,12± 0,17 ^b	60	13,63±0,10 ^b	300	11,95±0,20 ^c	1/30	13,95±0,11 ^c
Ethanol 50%	12,9± 0,10 ^b	70	14,00± 0,29 ^a	90	15,04±0,12 ^a	500	15,10±0,06 ^b	1/40	16,07±0,07 ^a
				120	14,00±0,30 ^b	700	15,63±0,19 ^a	1/60	15,51±0,07 ^b
						900	15,47±0,04 ^{ab}		

Les résultats sont rapportés en moyenne \pm SD. Les mêmes lettres dans la même colonne signifient qu'il n'y a pas de différence significative à ($P > 0,05$).

IV.2. 1.1. Effet du solvant d'extraction

Le choix du solvant d'extraction est primordial, il joue un rôle déterminant sur la quantité ainsi que sur le type de composés phénoliques à extraire.

Selon les résultats obtenus (tableau IV.3) l'acétone est le solvant qui a donné la meilleur teneur en polyphénols totaux et qui est de $14,27 \pm 0,14$ mg EAG/g du à sa meilleure sélectivité et sa faible viscosité (Farhoosh, 2009). Cependant, vue la toxicité de l'acétone, l'éthanol a été sélectionné comme solvant d'extraction pour les essais de l'étude préliminaire et pour les essais de MSR, avec une teneur en CPT de $12,9 \pm 0,10$ mg EAG /g, et qui est également le solvant utilisé par Pan (2003) pour l'extraction des polyphénols à partir des feuilles du thé vert par MAE pour des travaux d'optimisation.

D'autres études ont montré que l'éthanol est le solvant adéquat pour l'extraction des composés phénoliques (Spingo et De Faveri, 2009). De plus, l'éthanol est un bon absorbant de l'énergie des micro-ondes (Hernandez-Pérez et al., 2005), car il possède un facteur de dissipation ($\tan \delta$), beaucoup plus élevé que les autres solvants (Bougrin et al., 2005) qui est de 0,941 (Hernandez-Pérez et al., 2005) et une constante diélectrique de 24,3 (Bonnailli et al., 2012).

IV.2. 1.2. Effet de la concentration de l'éthanol

La teneur maximale en CPT ($14,00 \pm 0,29$ mg EAG/g) a été obtenue avec de l'éthanol à 70% qui est fixé pour les expériences de l'étude préliminaire, toute fois à partir des résultats de l'étude statistique (Tableau IV.3), la gamme de concentration de 50-100% a été choisie pour les essais de MSR.

L'influence de la concentration de l'éthanol a été étudiée dans la gamme de 50 à 100%, car il est important de trouver un équilibre adéquat entre la polarité du solvant et du coefficient de perte diélectrique (**Svarc-Gajic , 2013**).

L'éthanol 70% étant le plus efficace pour l'extraction des composés phénoliques totaux. Cette observation était en concordance avec des conclusions décrites par d'autres auteurs traitant le dosage des polyphénols dans *F. vulgare* (**Harborne et Saleh, 1971 ; Saleh et al., 1983**).

IV.1.2.3. Temps d'extraction

La teneur en CPT augmente avec le temps d'extraction allant de 30 à 90 Sec et au de-là de 90 Sec la teneur en CPT diminue (Tableau IV.3). Cela est probablement du à la dégradation des composés phénoliques causée par l'irradiation des microondes à des temps d'extraction prolongés (**Alessandro, 2010**).

Le temps de 90 Sec a été sélectionné pour les essais préliminaires, tandis que la gamme 30-120 sec a été choisie pour les essais de MSR.

IV.1.2.4. Puissance

La puissance des micro-ondes influence d'une façon significative la teneur en CPT. Cette teneur augmente avec la puissance des micro-ondes de 100 à 700 W puis elle reste constante voir elle diminue légèrement pour la puissance 900W (sans différence significative ($P > 0.05$) entre 700 et 900 W) (Tableau IV.3).

La puissance des micro-ondes a été fixée à 700W pour les essais préliminaires, tandis que la gamme 500-900 W a été choisie pour les essais de MSR.

Selon **Spigno et De Faveri. (2000)**, une amélioration de l'extraction des polyphénols est due à l'effet du chauffage et par conséquent une augmentation des phénomènes de transfert de masse, jusqu'à une certaine valeur de puissance des micro-ondes, puis, à la dégradation thermique des composés bioactifs à des puissances plus élevées.

IV.1.2.5. Ratio solide/liquide

La teneur en CPT augmente avec l'augmentation du volume du solvant en raison d'un plus grand gradient de concentration ce qui augmente le transfert de masse. En outre, le volume du solvant doit être suffisant pour assurer une immersion totale de l'échantillon (Eskilsson et Björklund, 2000).

A partir des résultats obtenus (Tableau IV.3), la gamme 20 à 40 ml a été choisie pour l'optimisation MSR.

IV.2. 2. Application du plan d'expérience

En se basant sur les observations des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendante (concentration en éthanol (X_1), temps d'extraction (X_2) puissance pour MAE et amplitude pour UAE (X_3), et le ratio (X_4)) influençant les réponses étudiées (polyphénols totaux, flavonoïdes et le test d'inhibition du DPPH°) ont été introduits dans le logiciel JMP en utilisant le plan BBD.

IV.2.2.1. polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux obtenues dans les différentes conditions expérimentales, à partir des 27 essais sont illustrées dans le tableau IV.4

Tableau IV. 4 : Valeurs expérimentales et prédites des CPT du plan BBD

	X1 : Pourcentage d'éthanol (%) V/V)	X2 : Temps (Sec)	X3 : Puissance (%)	X3 : Ratio (mg/g)	Valeur expérimentale (mg EAG/g)	Valeur prédite (mg EAG/g)
1	75	75	700	30	17,19±0,06	17,44
2	75	120	700	40	10,50±0,27	10,06
3	50	75	700	40	15,83±0,64	16,06
4	100	75	500	30	5,72±0,38	5,29
5	75	75	900	20	14,32±0,59	13,55
6	100	75	700	20	7,27±0,83	6,99
7	100	75	900	30	6,80±0,96	7,86
8	50	120	700	30	12,27±0,53	12,40
9	75	30	700	40	15,03±0,76	14,43
10	50	30	700	30	16,03±0,52	15,50
11	75	75	700	30	17,44±0,14	17,44
12	100	120	700	30	4,07±0,43	4,18
13	75	75	500	20	17,44±0,46	16,66
14	75	120	900	30	11,11±0,25	9,92
15	75	75	700	30	17,68±0,05	17,44
16	75	75	500	40	12,82±0,25	13,17
17	50	75	500	30	18,28±0,88	17,72
18	75	120	700	20	12,25±0,78	13,35
19	50	75	700	20	17,63±0,25	17,47
20	75	30	500	30	10,64±0,20	11,78
21	75	30	700	20	11,36±0,18	12,30
22	100	75	700	40	7,12±0,85	7,23
23	100	30	700	30	4,96±0,06	4,41
24	75	30	900	30	14,27±0,29	13,90
25	75	75	900	40	15,51±0,17	15,88
26	75	120	500	30	12,11±0,39	12,43
27	50	75	900	30	13,82±0,11	14,75

a. Modèle mathématique

Connaissant les valeurs du coefficient a_0 , les coefficients linéaires, les coefficients des interactions et quadratiques de chaque facteur, ces valeurs sont rapportées dans la fonction de y , le modèle mathématique postulé est un modèle polynomial de second degré présenté par la relation suivante :

$$Y_{CPT} = 17,44 - 4,82X_1 - 0,83X_2 + 0,71X_1X_2 + 0,41X_1X_4 - 1,35X_2X_4 + 1,45X_3X_4 - 4,45X_1^2 - 3,85X_2^2 - 1,57X_3^2 - 1,04X_4^2 \dots \dots \dots \text{(Equation IV. 1)}$$

b. Effet des facteurs**➤ Effet linéaire**

L'équation IV.1 montre que le facteur qui influence d'une manière hautement significative sur l'extraction des CPT par MAE est la concentration du solvant (X1) avec une probabilité $P < 0.0001$ et F-ratio ($F = 38.3932$), suivi par et le temps d'extraction (X2) avec une probabilité $P (0,0093)$ et F-ratio ($F = 9,5573$) Cependant l'impact est non significatif pour les autres facteurs.

➤ Effet quadratique

Les effets quadratiques X_1^2 (solvant*solvant), X_2^2 (temps*temps), X_3^2 (puissance*puissance), et X_4^2 (ratio*ratio) influencent d'une manière significative sur la teneur en polyphénols totaux, avec des probabilités P de < 0.0001 , < 0.0001 , 0.0021 et 0.0234 , respectivement.

➤ Effet d'interaction

Les interactions $X_2 * X_3$ (temps*puissance), $X_3 * X_4$ (puissance/ratio), $X_2 * X_4$ (temps/ratio) et $X_1 * X_3$ (pourcentage du solvant*puissance) sont significative sur l'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles de fenouil avec des probabilités P de 0.0018 , 0.0089 , 0.0132 et 0.0289 , respectivement. Alors que les interactions $X_1 * X_2$ (pourcentage du solvant*temps) et $X_1 * X_4$ (pourcentage du solvant*ratio), ne sont pas significatives. Ces interactions sont montrées dans la figure IV.12.

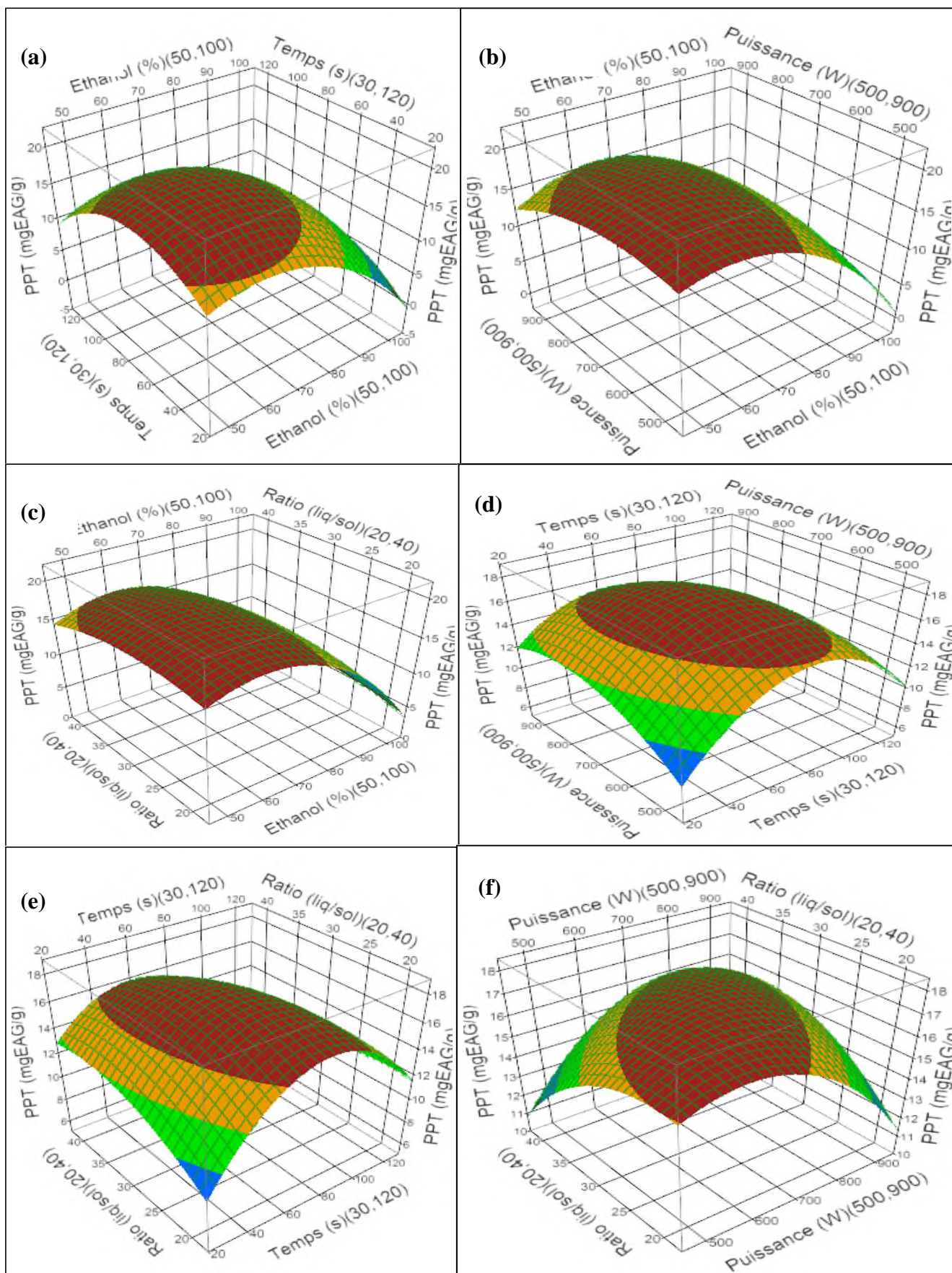


Figure IV. 1: surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en CPT.

(a) : solvant/temps, (b) : solvant/puissance, (c) : solvant/ratio, (d) : puissance/temps, (e) : ratio/temps, (f) : puissance/ratio.

Les résultats illustrés dans la figure IV.1. (d) montrent que l'augmentation de la puissance de 500 à 700W avec le temps d'extraction de 30 à 70 Sec améliorent le rendement d'extraction. Une augmentation de la puissance au-delà de 700W et un temps supérieur à 70 Sec marque un déclin progressif de la réponse. Le même phénomène a été observé par **Khizar et al. (2009)**.

Comme le montre la figue. IV.1. (f), une augmentation de la puissance de 500 à 700W et une augmentation du volume de solvant du 20 au 30 ml augmente le rendement de l'extraction. Mais à une puissance supérieure à 700W et un volume supérieur à 30 ml, on remarque une diminution du rendement d'extraction.

L'interaction entre le temps d'extraction et de rapport solide/ liquide (Figure. IV.1. (e)) montre que la teneur en CPT augmente rapidement avec l'augmentation du temps d'extraction jusqu'à 70 Sec, en fixant le rapport solide/ liquide, alors qu'avec une augmentation du volume liquide au-delà de 30 ml, une légère diminution a été observée sur la teneur en CPT. Ces résultats sont en accord avec les travaux de **Khizar et al. (2009)**.

La figure. IV.1. (b) montre que la teneur la plus élevée en CPT est atteinte lorsqu'on utilise une puissance de 700W et une concentration d'éthanol à 65%. Cela peut être expliqué par le fait que ; lorsque la concentration du solvant augmente, sa polarité change, ce qui extrait plus d'impureté résultant ainsi une diminution dans le rendement d'extraction des CPT. D'autre part, la présence appropriée d'eau dans le solvant facilite l'extraction et améliore le gonflement de la matière végétale, favorisant la surface de contact entre la matrice végétale et le solvant (**Huang et al., 2009**).

c. Validation du model

Les coefficients de régression sont résumés dans le tableau IV.5

Tableau IV.5 : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT en utilisant le BBD de la surface de réponse.

Term	Sum of Squares	t		F Ratio	DF	Estimate	Std Error
		Ratio	Prob > F				
Intercept	467,7422	32,3837	<0,0001*	38,3932	14	17,4413	0,5386
Ethanol : X1	279,6587	-17,9268	<0,0001*	321,3693	1	-4,8275	0,2693
Temps : X2	8,3168	-3,0915	0,0093*	9,5573	1	-0,8325	0,2693
Puissance : X3	0,1180	-0,3683	0,7191	0,1356	1	-0,0992	0,2693
Ratio : X4	1,0015	-1,0728	0,3045	1,1509	1	-0,2889	0,2693
X1* X1	105,9163	-11,0324	<0,0001*	121,7136	1	-4,4564	0,4039
X2* X2	79,4098	-9,5527	<0,0001*	91,2536	1	-3,8587	0,4039
X3* X3	13,2757	-3,9059	0,0021*	15,2558	1	-1,5777	0,4039
X4 *X4	5,8626	-2,5956	0,0234*	6,7369	1	-1,0484	0,4039
X1* X2	2,0590	1,5382	0,1499	2,3661	1	0,7175	0,4664
X2* X3	7,6632	2,9675	0,0118*	8,8062	1	1,3841	0,4664
X1* X3	5,3543	-2,4805	0,0289*	6,1529	1	-1,1570	0,4664
X1* X4	0,6813	0,8848	0,3936	0,7829	1	0,4127	0,4664
X2* X4	7,3501	-2,9063	0,0132*	8,4464	1	-1,3556	0,4664
X3* X4	8,4561	3,1173	0,0089*	9,7173		1,4540	0,4664
Lack Of Fit	10,3198		0,0574	16,8307	10		
Pure Error	0,1226			0,0573	2		
Total Error	10,4425			0,9997	12		
C. Total	478,1847				26		
R²	0,97816						
R² Adj	0,95268						
R M S E	0,9328						

Les résultats enregistrés dans le tableau IV.5 indique que le modèle représente de manière adéquate la relation entre les paramètres choisis et la réponse en CPT. Cette analyse montre que le modèle est très significatif ($P < 0,0001$) avec un coefficient de régression R^2 de 0.97. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté $R^2_{\text{ajusté}}$ est de l'ordre de 0.95 et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0,05$).

IV.2.2.2. flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes mesurées par la méthode du chlorure d'Aluminium des extraits obtenus dans les différentes conditions expérimentales sont représentées dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV. 6 : Valeurs expérimentales et prédites des flavonoïdes du plan BBD

	X1 : Pourcentage d'éthanol (% V/V)	X2 : Temps (Sec)	X3 : Puissance (%)	X3 : Ratio (mg/g)	Valeur expérimentale (mg ER/g)	Valeur prédite (mg EAG/g)
1	75	75	700	30	12,57±0,28	13,19
2	75	120	700	40	10,23±0,38	10,57
3	50	75	700	40	6,89±0,13	7,33
4	100	75	500	30	10,34±0,39	10,31
5	75	75	900	20	7,86±0,04	7,83
6	100	75	700	20	9,18±0,24	8,77
7	100	75	900	30	6,77±0,24	7,84
8	50	120	700	30	9,56±0,37	9,34
9	75	30	700	40	11,74±0,40	11,65
10	50	30	700	30	10,53±0,12	10,63
11	75	75	700	30	14±0,32	13,19
12	100	120	700	30	12,89±0,17	12,42
13	75	75	500	20	10,69±0,62	10,67
14	75	120	900	30	9,42±0,51	8,83
15	75	75	700	30	13,00±0,35	13,19
16	75	75	500	40	9,29±0,28	8,95
17	50	75	500	30	8,75±0,90	8,02
18	75	120	700	20	12,05±0,26	12,48
19	50	75	700	20	11,77±0,16	11,80
20	75	30	500	30	8,99±0,17	9,61
21	75	30	700	20	10,21±0,34	10,21
22	100	75	700	40	12,75±0,26	12,75
23	100	30	700	30	10,09±0,18	9,94
24	75	30	900	30	9,37±0,19	8,89
25	75	75	900	40	9,42±0,22	9,07
26	75	120	500	30	10,35±0,12	10,86
27	50	75	900	30	7,37±0,12	7,75

a. Modèle mathématique

Le model mathématique du plan BBD des 27 essais reliant la teneur en flavonoïdes et les paramètres expérimentaux est présenté par la relation suivante :

$$Y_{\text{flavonoïdes}} = 12,19 + 0,59X_1 + 0,68X_3 + 0,94X_1X_2 + 2,11X_1X_4 - 0,83X_2X_4 + 0,74X_3X_4 + 1,83X_1^2 - 0,77X_2^2 - 2,87X_3^2 - 1,18X_4^2 \dots \dots \dots \text{(Equation IV.2)}$$

b. Effet des facteurs**➤ Effet linéaire**

Les deux facteurs ; concentration du solvant et puissance des micro-ondes influencent de manière significative le taux des flavonoïdes avec des valeurs de ($P=0.0093$ et 0.0040) respectivement. Par contre l'influence de temps d'irradiation et le ratio solide/liquide est non significative. Cela est vraisemblablement dû à la polarité du système (eau/éthanol) qui varie en fonction de la concentration de l'éthanol qui est caractérisé par sa constante diélectrique et de la polarité des flavonoïdes (**Spingo et De Faveri, 2009**).

➤ Effet quadratique

Tous les effets quadratiques influencent d'une manière significative sur l'extraction des flavonoïdes avec des valeurs de ($P<0.0001$) pour ($X1*X1$) et ($X3*X3$) et de ($P= 0.0014$ et $P=0.0205$) pour ($X4*X4$) et ($X2*X2$) respectivement.

➤ Effet d'interaction

L'équation IV.2 montre que l'interaction (pourcentage du solvant/ratio) est hautement significative ($P<0.0001$), les interactions (pourcentage du solvant/temps), (temps/ratio) et (puissance/ratio) sont également significatives sur l'extraction des flavonoïdes à partir des feuilles de fenouil avec des probabilités de $P= (0.0153, 0.0274, 0.0466)$, respectivement.

Les différentes interactions sont représentées dans la figure IV.2

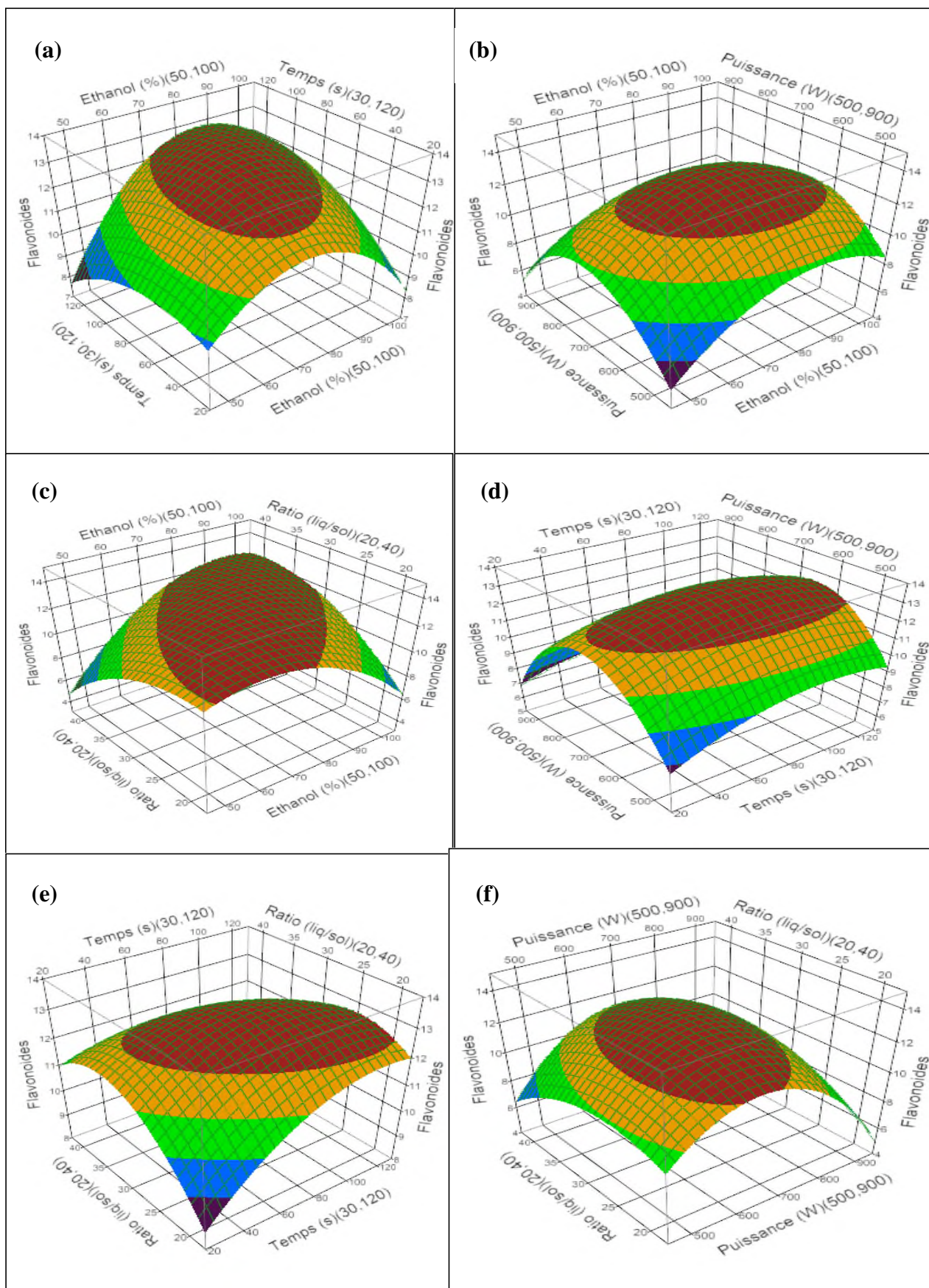


Figure IV. 2: surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en flavonoïdes.

(a) : solvant/temps, (b) : solvant/puissance, (c) : solvant/ratio, (d) : puissance/temps, (e) : ratio/temps, (f) :
puissance/ratio.

Les résultats de l'analyse de la variance concernant l'effet des facteurs sur les teneurs en flavonoïde sont indiqués dans le tableau IV.7

Tableau IV.7 : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les flavonoïdes en utilisant le BBD de la surface de réponse.

Term	Sum of Squares	t Ratio	Prob > F	F Ratio	DF	Estimate	Std Error
Intercept	88,8939	34,2360	<0,0001*	14,2593	14	13,1900	0,3853
Ethanol : X1	4,2602	3,0931	0,0093*	9,5672	1	0,5958	0,1926
Temps : X2	1,0621	1,5444	0,1484	2,3851	1	0,2975	0,1926
Puissance : X3	5,6033	-3,5473	0,0040*	12,5835	1	-0,6833	0,1926
Ratio : X4	0,1728	-0,6229	0,5450	0,3881	1	-0,1200	0,1926
X1* X1	18,0238	-6,3621	<0,0001*	40,4765	1	-1,8383	0,2889
X2* X2	3,1690	-2,6677	0,0205*	7,1167	1	-0,7708	0,2889
X3* X3	43,9939	-9,9397	<0,0001*	98,7982	1	-2,8721	0,2889
X4 *X4	7,5472	-4,1169	0,0014*	16,9490	1	-1,1896	0,2889
X1* X2	3,5532	2,8248	0,0153*	7,9796	1	0,9425	0,3337
X2* X3	1,1990	-1,6409	0,1267	2,6927	1	-0,5475	0,3337
X1* X3	0,4290	-0,9816	0,3457	0,9635	1	-0,3275	0,3337
X1* X4	17,8506	6,3315	<0,0001*	40,0876	1	2,1125	0,3337
X2* X4	2,8056	-2,5101	0,0274*	6,3007	1	-0,8375	0,3337
X3* X4	2,1904	2,2179	0,0466*	4,9190		0,7400	0,3337
Lack Of Fit	4,2668		0,6753	0,7926	10		
Pure Error	1,0766			0,6753	2		
Total Error	5,3434			0,9885	12		
C. Total	94,2374				26		
R²	0,9432						
R² Adj	0,8771						
R M S E	0,6673						

Les résultats enregistrés dans le tableau IV.7 indiquent que le modèle choisit pour les teneurs en flavonoïdes est satisfaisant ($P < 0,0001$) avec un coefficient de régression R^2 de 0,94, une valeur de R^2 ajusté de 0,87 et une probabilité de manque d'ajustement non significative ($P = 0,67$).

IV.2.1.3. DPPH

Le pourcentage d'inhibition de DPPH° varie entre 43,81 et 80,96%. Cette variation confirme l'influence des quatre facteurs sur l'activité antioxydante (tableau IV.8).

Tableau IV.8 : Valeurs expérimentales et prédites des activités antioxydantes (% d'inhibition de DPPH°) du plan BBD

	X1 : Pourcentage d'éthanol (% V/V)	X2 : Temps (Sec)	X3 : Puissance (%)	X4 : Ratio (mg/g)	Valeur expérimentale (%)	Valeur prédite (%)
1	75	75	700	30	79,16±0,33	78,41
2	75	120	700	40	67,67±0,20	70,36
3	50	75	700	40	49,09±1,17	49,59
4	100	75	500	30	67,64±0,07	69,57
5	75	75	900	20	49,32±1,30	49,67
6	100	75	700	20	60,49±0,46	57,39
7	100	75	900	30	43,81±0,88	49,66
8	50	120	700	30	70,16±0,90	71,70
9	75	30	700	40	75,64±0,53	77,18
10	50	30	700	30	67,46±0,80	68,38
11	75	75	700	30	77,22±0,33	78,41
12	100	120	700	30	71,36±0,84	70,00
13	75	75	500	20	75,2±1,30	77,36
14	75	120	900	30	60,84±0,75	57,60
15	75	75	700	30	78,86±0,40	78,41
16	75	75	500	40	61,24±0,50	60,44
17	50	75	500	30	63,41±0,56	60,60
18	75	120	700	20	77,47±0,93	78,97
19	50	75	700	20	75,16±0,30	73,90
20	75	30	500	30	73,90±0,38	74,54
21	75	30	700	20	76,18±0,20	76,53
22	100	75	700	40	75,07±0,90	73,73
23	100	30	700	30	79,68±0,66	77,70
24	75	30	900	30	78,76±0,27	67,28
25	75	75	900	40	61,22±1,93	58,62
26	75	120	500	30	80,96±0,15	79,84
27	50	75	900	30	49,89±1,54	51,00

a. Modèle mathématique

Le modèle mathématique reliant l'activité antioxydante et les facteurs étudiés est présenté par la relation suivante :

$$Y_{DPPH} = 78,41 + 1,90X_1 - 7,37X_3 - 1,99X_4 - 3,74 X_1X_3 + 10,16X_1X_4 - 2,31 X_2X_4 + 6,46X_3X_4 - 9,28X_1^2 - 11,41X_3^2 - 5,47X_4^2 \dots \dots \dots \text{(Equation IV. 3)}$$

b. Effet des facteurs**➤ Effet linéaire**

Les facteurs influençant l'activité antioxydante des extraits de fenouil sont la puissance, le ratio solide liquide et la concentration de l'éthanol. Seul l'effet temps qui n'est pas significatif

➤ Effet quadratique

Il y'a un seul effet quadratique (X_2^2) qui n'est pas significatif, les effets (X_1) et (X_3) sont hautement significatifs ($P < 0.0001$) et la probabilité de l'effet (X_4) est de ($P = 0.0013$).

➤ Effet d'interaction

L'interaction ($X_1 \times X_4$) est hautement significative ($P < 0.0001$), les interactions ($X_3 \times X_4$) et ($X_1 \times X_3$) sont significatives avec des probabilités de ($P = 0.0011$) et ($P = 0.0293$) respectivement.

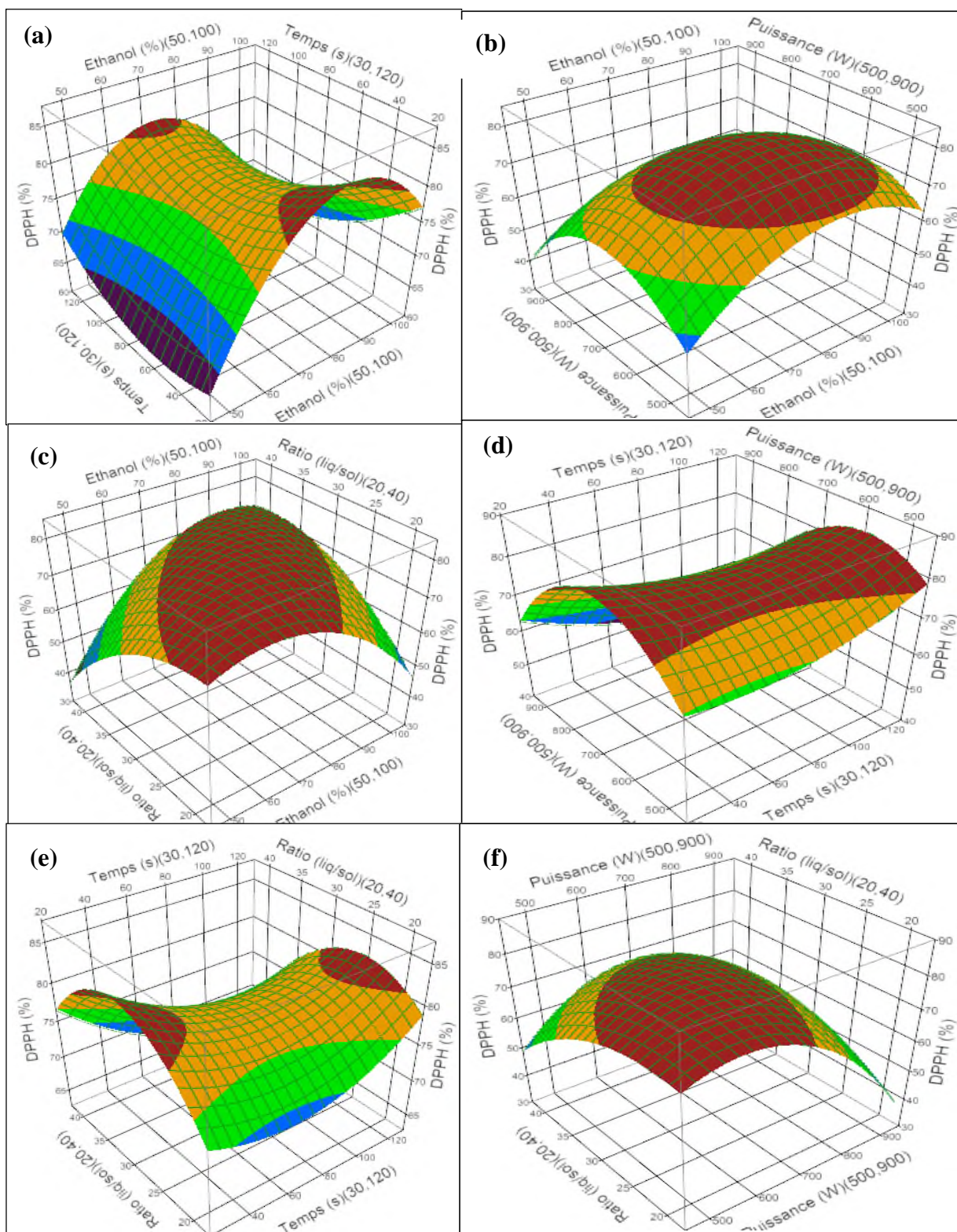


Figure IV. 3: surface de réponse pour les différentes interactions sur l'activité antioxydante.

(a) : solvant/temps, (b) : solvant/puissance, (c) : solvant/ratio, (d) : puissance/temps, (e) : ratio/temps, (f) : puissance/ratio.

c. Validation du model

Les résultats de l'effet des facteurs sur l'activité antioxydante sont représentés par les coefficients de régression dans le tableau suivant :

Tableau IV.9 : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les l'activité antioxydante (inhibition du radicale DPPH) en utilisant le BBD de la surface de réponse

Term	Sum of Squares	t Ratio	Prob > F	F Ratio	DF	Estimate	Std Error
Intercept	2781,8466	44,8609	<0,0001*	21,67901	14	78,4133	1,7479
Ethanol : X1	43,6245	2,1816	0,0497*	4,7595	1	1,9067	0,8740
Temps : X2	14,4321	-1,2548	0,2334	1,5746	1	-1,0967	0,8740
Puissance : X3	652,8350	-8,4395	<0,0001*	71,2259	1	-7,3758	0,8740
Ratio : X4	47,5610	-2,2779	0,0418*	5,1890	1	-1,9908	0,8740
X1* X1	460,1234	-7,0852	<0,0001*	50,2006	1	-9,2883	1,3109
X2* X2	42,3877	2,1505	0,0526	4,6246	1	2,8192	1,3109
X3* X3	695,1989	-8,7091	<0,0001*	75,8479	1	-11,4171	1,3109
X4 *X4	159,6997	-4,1742	0,0013*	17,4236	1	-5,4721	1,3109
X1* X2	30,3601	-1,8200	0,0938	3,3124	1	-2,7550	1,5137
X2* X3	26,5740	-1,7027	0,1144	2,8993	1	-2,5775	1,5137
X1* X3	56,1001	-2,4740	0,0293*	6,1207	1	-3,7450	1,5137
X1* X4	413,1056	6,7135	<0,0001*	45,0708	1	10,1625	1,5137
X2* X4	21,4369	-1,5293	0,1521	2,3388	1	-2,3150	1,5137
X3* X4	167,1849	4,2709	0,0011*	18,2403	1	6,4650	1,5137
Lack Of Fit	107,807		0,0953	9,8857	10		
Pure Error	2,1810			0,0952	2		
Total Error	109,9883			0,9992	12		
C. Total	2891,8350						
R²	0,9619						
R² Adj	0,9175						
R M S E	3,0274						

L'analyse statistique (Tableau IV.9) montre que R^2 du model est égal à 0,96, $R^2_{ajusté}$ =0,91, ce qui confirme la significativité du model à ($P<0,005$) et le manque d'ajustement n'est pas significatif à ($P>0,05$).

En résumé, le facteur le plus important dans MAE est la concentration de l'éthanol avec des effets significatifs sur les trois réponses. Le temps d'extraction a une influence linéaire significative sur la teneur en CPT mais pas sur les deux autres réponses, aussi pour le terme quadratique qui est significatif uniquement sur la teneur en CPT et en flavonoïdes. La puissance des micro-ondes n'influence pas significativement sur la teneur en CPT mais son effet quadratique est très significatif pour les trois réponses. Le facteur ratio solide/liquide n'affecte d'une manière significative que l'activité antioxydante alors que son effet

quadratique est significatif sur les trois réponses. Les interactions entre les différents facteurs sont en général significatives.

IV.2.2.4. Conditions optimales

Les conditions optimales de l'extraction des polyphénols par micro-ondes à partir des feuilles de *F. vulgare* ont été obtenues en utilisant les équations de régression de la méthodologie de surface de réponse. Le tableau (IV.10) indique le pourcentage du solvant, la puissance des micro-ondes, le temps d'irradiation et le ratio (liquide/solide) qui permettent de donner la meilleure réponse en polyphénols totaux, flavonoïdes, % d'inhibition de DPPH° ainsi que les valeurs expérimentales et les valeurs prédites (obtenues par le logiciel).

Tableau IV. 10 : Conditions optimales d'extraction (MAE)

	%Ethanol (% V/V)	Puissance (W)	Temps (Sec)	Ratio (ml /g)	Valeurs expérimentales	Valeurs prédites
TPC (mg EAG/g)	57,63	545,01	79,38	21,25	18,18±0,53	19,24
Flavonoïdes (mg ER/g)	82,64	666,54	93,00	20,28	12,29±0,11	13,39
DPPH (%)	74,57	621,78	64,66	26,19	81,87±0,90	80,34

Les résultats montrés dans le tableau IV.10 indiquent que valeurs expérimentales sont proches des valeurs prédites ce qui confirme la validité du modèle choisie.

IV.3. Extraction assistée par ultrasons

IV.3. 1. Etudes préliminaires

Les résultats des analyses préliminaires sont représentés dans le tableau IV.11

Tableau IV.11: Résultats des analyses préliminaires pour UAE

Type	Solvant	%Ethanol		Temps d'irradiation		Amplitude		Ratio solide/liquide	
	(mg EAG/g)	%	(mg EAG/g)	min	(mg EAG/g)	%	(mg EAG/g)	g/ml	(mg EAG/g)
Acétone 50%	14,05±0,06 ^a	30	8,95±0,26 ^c	5	12,59±0,08 ^c	20	9,28± 0,19 ^d	1/20	11,80±0,06 ^c
Acétonit rile 50%	11,60±0,07 ^c	50	13,00±0,11 ^b	10	13,61±0,14 ^a	40	11,52±0,06 ^c	1/30	12,58±0,04 ^d
Méthan ol 50%	11,95±0,09 ^b	70	13,77±0,06 ^a	15	13,14±0,12 ^b	60	12,56±0,07 ^b	1/40	14,22±0,10 ^a
Ethanol 50%	12,22±0,08 ^b			20	13,73±0,19 ^a	80	12,99±0,12 ^a	1/50	13,85±0,02 ^b
Eau	5,60±0,23 ^d			25	12,46±0,19 ^c	100	12,92±0,16 ^a	1/60	13,29±0,06 ^c
				30	11,79±0,13 ^d				

IV.3. 1.1. Effet du solvant d'extraction

Selon les résultats obtenus (Tableau IV.11) le solvant le plus polaire (l'eau) a donné la valeur la plus faible en CPT (5,60±0,23 mg EAG/g) et l'acétone 50% donne la teneur la plus élevée (14,05±0,06 mg EAG/g). Cela peut être expliqué par l'importante viscosité de l'eau (Sahin et Samli, 2013) et par la pression de vapeur élevé de la l'acétone par rapport aux autres solvants (Rezaie et al., 2015).

Les alcools participent aux réactions chimiques reliées aux liens polaires de type oxygène-carbone et hydrogène-oxygène tandis que les molécules d'eau peuvent simplement participer aux réactions qui impliquent des liens 'hydrogène -oxygène (Philip et Christina, 2000). De plus les bulles de cavitation sont produites plus facilement dans les solvants moins

visqueux due à l'intensité ultrasonique qui peut accéder facilement au solvant (**Hemwimol et al., 2006**).

Mata et al. (2007) ont montré que l'extrait éthanolique de fenouil présente une activité scavenger plus forte que celle donnée par l'extrait aqueux.

De point de vue toxicologique, l'éthanol, est moins toxique que l'acétone, l'acétonitrile, le méthanol et tout autre solvant organique, et donc plus approprié à l'industrie alimentaire. C'est ainsi, que l'éthanol a été sélectionné pour la réalisation des analyses présentés dans l'étude suivante.

IV.3. 1.2. Effet de la concentration de l'éthanol

L'éthanol 70% a été distingué par rapport à la teneur la plus élevée en CPT enregistrée (13,77 mg EAG/g), alors que la teneur la plus faible a été obtenue avec l'éthanol 30% (8,85 mg EAG/g). A partir de ces résultats l'éthanol 70% a été choisi pour les expériences de l'étude préliminaire, et la gamme de concentration de 50-100% a été choisie pour les essais de RSM.

IV.3. 1.3. Temps d'extraction

Le mécanisme d'EAU comprend deux étapes principales. La première concerne, la dissolution des composants solubles sur la surface de la matrice végétale appelée « washing ». La deuxième, implique le transfert de masse de la substance dissoute à travers la matrice vers le solvant par diffusion et les processus osmotiques ce qui est appelé « slow extraction » (**Chavan et Singhal, 2013**)

Selon les résultats obtenus (IV.11), ces deux phénomènes ont été observés. Une augmentation rapide de l'extraction (washing). Après 10 min, le deuxième phénomène (slow extraction) a été observé. C'est pour cette raison que 10 min a été considéré comme étant l'optimum qui donne l'équilibre d'extraction, alors que l'intervalle 5 à 15min a été choisi pour les essais de MSR. Les mêmes résultats ont été trouvés par **Dahmoune et al. (2013)**.

Un temps prolongé d'extraction peut augmenter la décomposition des composés bioactifs et diminuer de ce fait le rendement. Il est également évident qu'un temps beaucoup plus long soit une situation moins pratique du point de vue économique (**Chavan et Singhal, 2013**)

IV.3. 1.4. Amplitude

Les teneurs en CPT augmentent avec l'augmentation de l'amplitude des ondes ultrasonores de 20 à 60% puis elles restent constantes de 80 à 100% (pas de différence significative) (Tableau IV.11). La gamme d'amplitude choisie pour les essais de RMS est de 60-100%

En appliquant une grande amplitude des ondes ultrasonores traversant le milieu d'extraction, des bulles de cavitation s'effondrent dans la proximité ou sur la surface des membranes végétale, ceci cause des microfissures qui augmentent la diffusion intermoléculaire de la substance dissoute, élevant ainsi la température du solvant et augmentant le rendement d'extraction. Cependant à une certaine limite l'amplitude affecte la stabilité d'extraction par l'effet de décomposition thermique (Chavan et Singhal, 2013).

IV.3. 1.5. Ratio solide/liquide

La teneur en CPT augmente en augmentant le volume du solvant d'extraction allant de 30 jusqu'à 40 ml, puis elle diminue en utilisant des volumes plus élevés.

En général, un plus grand volume de solvant peut dissoudre des constituants efficacement, conduisant à une amélioration de l'extraction. Cependant du point de vue économique, utiliser une grande quantité de solvant n'est pas rentable, impliquant ainsi une consommation élevée d'énergie (Yang et al., 2013).

IV.3. 1.6. Cycles de pulsation

Les résultats de l'effet du mode de pulsation sur la teneur en CPT sont représentés dans la figure suivante :

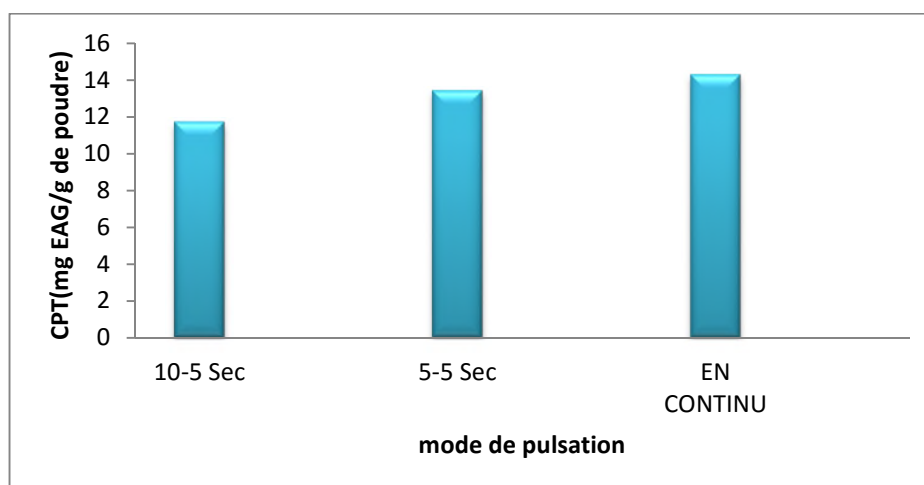


Figure IV.4 : Effet du cycle de pulsation sur l'extraction CPT par UAE

Les résultats illustrés dans la figure IV.4 montrent que le mode de pulsation en continu donne une teneur plus élevée en CPT ($14,29 \pm 0,49$ mg EAG/g).

Chavan et Singhal, 2013 ont montré que les sonifications en mode discontinu sont plus efficace que la sonication continue car en ce dernier l'effondrement de la bulle génère de la chaleur et de la pression qui peuvent dégrader les composés sensibles. Cependant dans notre cas la température au cours de l'extraction est contrôlée avec une sonde de température tout au long de l'extraction, grâce à un système de réfrigération en utilisant un bain de glace.

IV.3.2. Application du plan d'expérience

IV.3.2.1. polyphénols totaux

Les teneurs en polyphénols totaux des essais obtenus par ultrasons, sont illustrées dans le tableau IV.12

Tableau IV.12 : Valeurs expérimentales et prédites des CPT du plan BBD

	X1 : Pourcentage d'éthanol (% V/V)	X2 : Temps (min)	X3 : Amplitude (%)	X3 : Ratio (mg/g)	Valeur expérimentale (mg EAG/g)	Valeur prédite (mg EAG/g)
1	75	10	60	20	10,65±0,09	10,35
2	75	10	80	30	12,59±0,75	12,62
3	75	5	60	30	10,87±0,88	11,15
4	50	10	80	40	9,96±0,49	10,59
5	100	15	80	30	9,94±0,42	10,64
6	100	10	100	30	11,69±0,32	11,68
7	50	10	80	20	11,98±0,17	12,71
8	50	15	80	30	12,69±0,41	12,51
9	75	10	80	30	12,83±0,41	12,62
10	50	10	100	30	10,37±0,46	10,05
11	75	5	80	20	10,91±0,55	11,04
12	75	10	60	40	12,37±0,62	12,53
13	100	10	80	40	15,23±0,13	14,66
14	75	15	80	40	15,80±0,29	15,55
15	100	10	80	20	7,33±0,93	6,88
16	75	5	80	40	9,77±0,32	9,55
17	50	5	80	30	10,55±0,41	9,84
18	75	15	60	30	10,96±0,58	10,76
19	50	10	60	30	12,83±0,24	12,72
20	75	15	100	30	12,80±0,98	12,68
21	75	5	100	30	8,56±0,26	8,92
22	100	5	80	30	9,77±0,97	9,94
23	75	10	100	40	12,73±0,70	13,02
24	75	10	80	30	12,41±0,46	12,62
25	100	10	60	30	9,14±0,32	9,33
26	75	10	100	20	9,71±0,44	9,54
27	75	15	80	20	8,31±0,35	8,41

a. Modèle mathématique

Le model mathématique du BBD est représenté par l'équation (IV.4) qui régit l'extraction des CPT :

$$Y_{CPT} = 12,61 - 0,44X_1 + 0,84X_2 + 0,08X_3 + 1,41X_4 - 0,90X_1^2 - 0,97X_3^2 - 1,25X_2X_3 + 1,03 X_1X_3 + 2,47X_1X_4 + 2,15 X_2X_4 \dots\dots\dots \text{(Equation IV.4)}$$

b. Effet des facteurs**➤ Effet linéaire**

Le facteur qui influence d'une manière hautement significative sur l'extraction des CPT par ultra-sons est le ratio solide/liquide (X4) avec une probabilité $P < 0.0001$, et F-ratio ($F = 84.9776$). suivi par et le temps d'extraction (X2) avec une probabilité P (0,0001) et F-ratio ($F = 30,0557$) puis par la concentration du solvant avec ($P = 0.0141$). Cependant l'impact est non significatif pour l'amplitude.

➤ Effet quadratique

Les effets quadratiques sont significatifs seul l'effet ($X_4 * X_4$) qui n'est pas significatif.

➤ Effet d'interaction

Les deux interactions ($X_1 * X_4$) et ($X_2 * X_4$) sont hautement significatives ($p < 0.0001$) les interactions ($X_2 * X_3$) et ($X_1 * X_3$) sont significative à des valeurs de P (0.0005) et (0.0021) respectivement. Les interactions ($X_1 * X_2$) et ($X_3 * X_4$) sont non significatives.

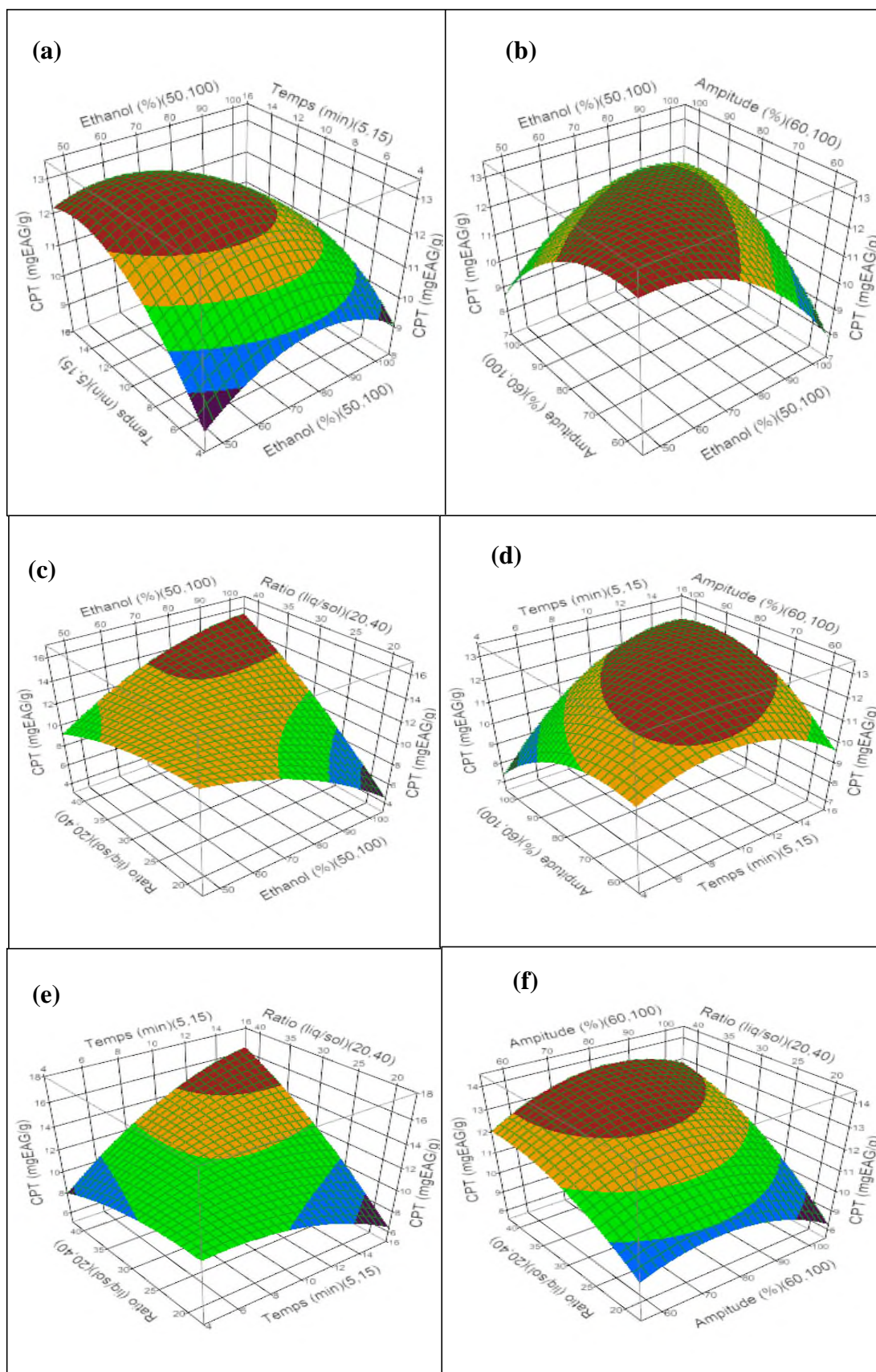


Figure IV.5 : surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en CPT
 (a) : solvant/temps, (b) : solvant/puissance, (c) : solvant/ratio, (d) : puissance/temps, (e) : ratio/temps,
 (f) : puissance/ratio.

Les résultats illustrés dans la figure IV.5. (c) montrent que la teneur en CPT augmente en augmentant le volume et la concentration du solvant jusqu'à une concentration de 70%, puis elle diminue.

Les résultats de la figure IV.5. (e) montre que les teneurs en CPT augmentent en augmentant le volume du solvant et initialement le temps du sonication, puis elles diminuent en prolongeant le temps au de-là de 12min. Cela peut être dû à la formation de substances chimiques sonores. Ces composants peuvent avoir des effets oxydatifs en produisant des radicaux libres qui peuvent détruire les double liaison conjuguée de certains composés phénoliques (**Zhang et al., 2010**)

Comme le montre la figure IV.4. (d), la valeur des CPT extraits par UAE augmente avec le temps d'extraction, en augmentant l'amplitude jusqu'à une valeur de 80% puis elle diminue progressivement. Ce phénomène est probablement dû à l'amélioration du transfert de masse aux amplitudes légèrement élevées. **Ghafoor et Choi, (2009)** ont également obtenu des résultats similaires. Ceci pourrait être attribué à la décomposition thermique de doubles liaisons conjuguées en appliquant des amplitudes très élevées à un temps prolongé.

La figure IV.5. (f) indique que l'augmentation de la concentration du solvant de 50 à 70% avec l'amplitude de 60 à 76% améliorent le rendement d'extraction des CPT. Une augmentation de la concentration du solvant au-delà de 70% et une amplitude supérieure à 76% marquent une diminution de la réponse. Le même résultat a été trouvé par **Mahmoud et al. (2014)**.

c. Validation du model

Les résultats de l'effet des facteurs sur la teneur en CPT sont représentés par les coefficients de régression dans le tableau suivant :

Tableau IV.13 : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT en utilisant le BBD de la surface de réponse

Term	Sum of Squares	t Ratio	Prob > F	F Ratio	DF	Estimate	Std Error
Intercept	97,8031	41,1071	<0,0001*	24,7189	14	12,6169	0,3069
Ethanol : X1	2,3268	-2,8694	0,0141*	8,2332	1	-0,4403	0,1535
Tps : X2	8,4942	5,4823	0,0001*	30,0557	1	0,8413	0,1535
Amplitude : X3	0,0767	-0,5211	0,6118	0,2715	1	-0,0800	0,1535
Ratio : X4	24,0159	9,2183	<0,0001*	84,9776	1	1,4147	0,1535
X1* X1	4,3956	-3,9438	0,0019*	15,5532	1	-0,9078	0,2302
X2* X2	5,1031	-4,2493	0,0011*	18,0566	1	-0,9782	0,2302
X3* X3	3,0831	-3,3029	0,0063*	10,9092	1	-0,7603	0,2302
X4 *X4	1,3307	-2,1699	0,0508	4,7085	1	-0,4995	0,2302
X1* X2	0,9779	-1,8602	0,0875	3,4602	1	-0,4944	0,2658
X2* X3	6,2977	4,7206	0,0005*	22,2838	1	1,2548	0,2658
X1* X3	4,3089	3,9047	0,0021*	15,2465	1	1,0379	0,2658
X1* X4	24,5812	9,3262	<0,0001*	86,9777	1	2,4790	0,2658
X2* X4	18,6267	8,1184	<0,0001*	65,9086	1	2,1579	0,2658
X3* X4	0,4235	1,2242	0,2444	1,4986	1	0,3254	0,2658
Lack Of Fit	3,3016		0,1255	7,3577	10		
Pure Error	0,0897			0,1254	2		
Total Error	3,3913			0,9991	12		
C. Total	101,194				26		
R²	0,9664						
R² Adj.	0,9273						
R M S E	0,5316						

Les résultats de l'analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT indiquent que le modèle choisi pour les teneurs en CPT est satisfaisant ($P < 0,0001$) avec un coefficient de régression R^2 de 0.96, une valeur de R^2 ajusté de 0.92 et une probabilité d'ajustement non significative ($P = 0,12$).

IV.3.2.2.flavonoïdes

Les teneurs en flavonoïdes des extraits obtenus dans les différentes conditions expérimentales et les valeurs prédites par le logiciel sont représentées dans le tableau IV.14

Tableau IV. 14 : Valeurs expérimentales et prédites des flavonoïdes du plan BBD

	X1 : Pourcentage d'éthanol (% V/V)	X2 : Temps (min)	X3 : Amplitude (%)	X3 : Ratio (mg/g)	Valeur expérimentale (mg ER/g)	Valeur prédite (mg ER/g)
1	75	10	60	20	5,26±0,34	5,04
2	75	10	80	30	6,53±0,22	6,26
3	75	5	60	30	5,84±0,29	5,99
4	50	10	80	40	3,16±0,13	3,39
5	100	15	80	30	5,76±0,22	5,86
6	100	10	100	30	6,87±0,52	6,54
7	50	10	80	20	3,19±0,17	3,33
8	50	15	80	30	4,32±0,07	4,31
9	75	10	80	30	5,66±0,08	6,26
10	50	10	100	30	4,91±0,11	4,62
11	75	5	80	20	4,70±0,15	4,70
12	75	10	60	40	4,30±0,16	4,44
13	100	10	80	40	5,54±0,24	5,70
14	75	15	80	40	5,00±0,42	4,62
15	100	10	80	20	4,46±0,13	4,53
16	75	5	80	40	6,51±0,12	6,05
17	50	5	80	30	4,82±0,11	4,80
18	75	15	60	30	5,82±0,11	5,89
19	50	10	60	30	4,41±0,40	4,36
20	75	15	100	30	5,58±0,34	5,73
21	75	5	100	30	6,78±0,14	7,02
22	100	5	80	30	6,68±0,12	6,77
23	75	10	100	40	5,80±0,38	6,10
24	75	10	80	30	6,58±0,04	6,26
25	100	10	60	30	6,04±0,13	5,95
26	75	10	100	20	4,32±0,19	4,26
27	75	15	80	20	4,66±0,04	4,74

a. Modèle mathématique

Le modèle mathématique postulé pour la teneur en flavonoïdes est représenté par la relation suivante :

$$Y_{\text{flavonoïde}} = 6,25 + 0,87X_1 - 0,34X_2 + 0,31X_4 - 0,80X_1^2 - 1,21X_4^2 + 0,61X_3X_4 \dots \dots \dots (\text{Equation IV.5})$$

b. Effet des facteurs

➤ *Effet linéaire*

L'équation IV.5 montre que les trois paramètres linéaires, la concentration de l'éthanol (X1), le temps (X2), et le rapport solide/ liquide (X4) sont significatifs à ($P < 0.005$) et que l'amplitude n'a pas d'effet significatif sur l'extraction des flavonoïdes.

➤ *Effet quadratique*

Les deux effets quadratiques (X1*X1) et (X4*X4) sont les effets significatifs avec (0.0002) et ($P < 0.0001$) respectivement

➤ *Effet d'interaction*

La seule interaction significative est (X3*X4) avec ($P = 0.0046$)

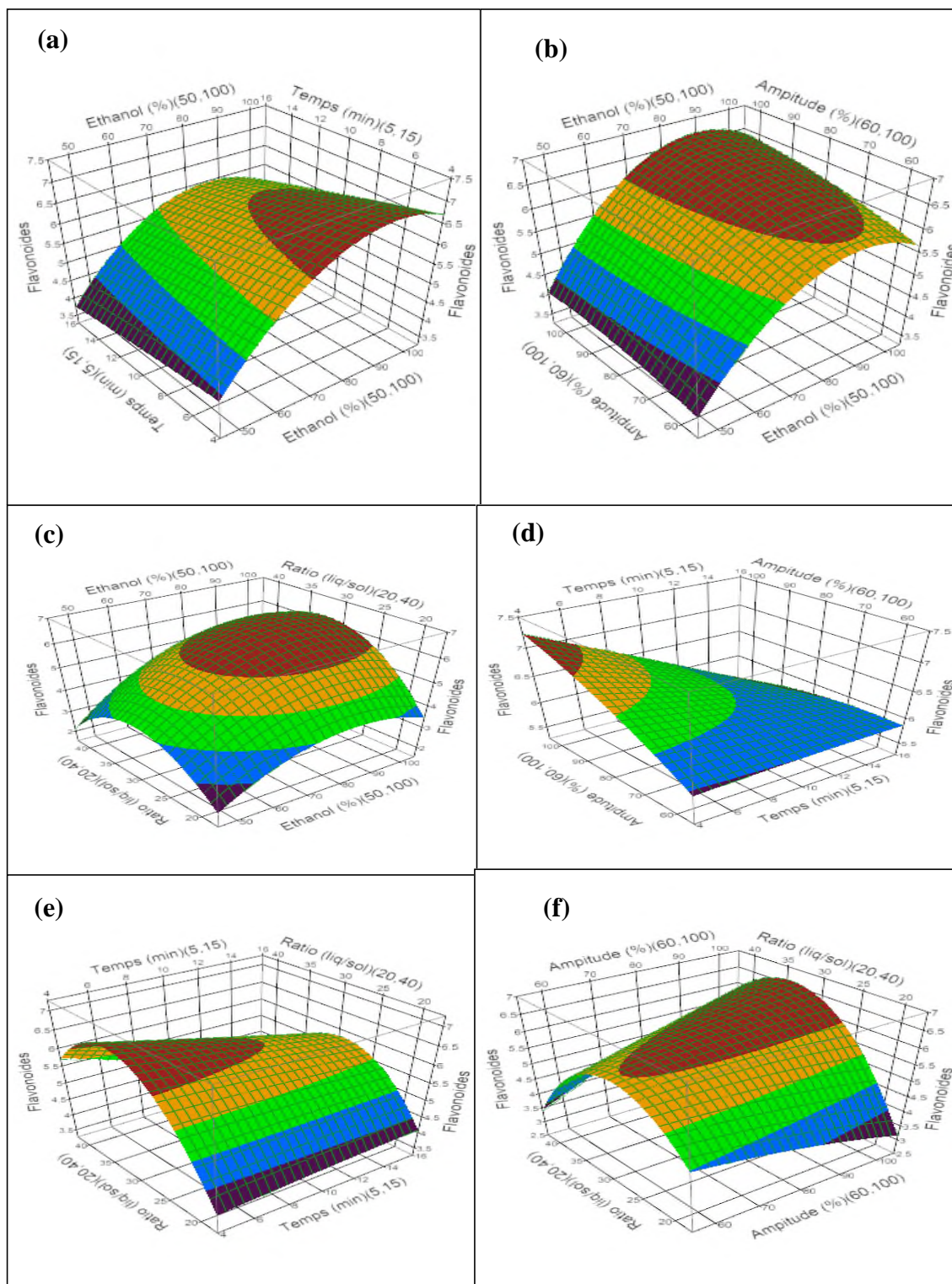


Figure IV.6: surface de réponse pour les différentes interactions sur la teneur en flavonoïdes

(a) : solvant/temps, (b) : solvant/puissance, (c) : solvant/ratio, (d) : puissance/temps, (e) : ratio/temps,

(f) : puissance/ratio.

c. Validation du model

Les résultats de l'effet des facteurs sur la teneur en flavonoïdes sont représentés par les coefficients de régression dans le tableau suivant :

Tableau IV.15 : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les flavonoïdes en utilisant le BBD de la surface de réponse

Term	Sum of Squares	t Ratio	Prob > F	F Ratio	DF	Estimate	Std Error
Intercept	26,2188	30,8475	<0,0001*	15,1746	14	6,2567	0,2028
Ethanol : X1	9,2576	8,6610	<0,0001*	75,0125	1	0,8783	0,1014
Temps : X2	1,4630	-3,4430	0,0049*	11,8544	1	-0,3492	0,1014
amplitude : X3	0,5590	2,1283	0,0547	4,5295	1	0,2158	0,1014
Ratio : X4	1,1532	3,0568	0,0100*	9,3441	1	0,3100	0,1014
X1* X1	3,4597	-5,2946	0,0002*	28,0333	1	-0,8054	0,1521
X2* X2	0,0015	-0,1096	0,9146	0,0120	1	-0,0167	0,1521
X3* X3	0,0378	-0,5533	0,5902	0,3061	1	-0,0842	0,1521
X4 *X4	7,8462	-7,9735	<0,0001*	63,5761	1	-1,2129	0,1521
X1* X2	0,0441	-0,5978	0,5611	0,3573	1	-0,1050	0,1757
X2* X3	0,0272	0,4697	0,6470	0,2206	1	0,0825	0,1757
X1* X3	0,3481	-1,6795	0,1189	2,8206	1	-0,2950	0,1757
X1* X4	0,3080	1,5798	0,1401	2,4959	1	0,2775	0,1757
X2* X4	0,5402	-2,0922	0,0583	4,3773	1	-0,3675	0,1757
X3* X4	1,4884	3,4728	0,0046*	12,0602	1	0,6100	0,1757
Lack Of Fit	3,3016		0,1225	0,35335	10		
Pure Error	0,0897			0,89381	2		
Total Error	3,3913			0,98067	12		
C. Total	101,1945						
R²	0,9465						
R² Adj	0,8841						
R M S E	0,3513						

D'après les résultats de la présente étude, le modèle choisis pour les teneurs en flavonoïdes est satisfaisant ($P < 0,0001$) avec un coefficient de régression $R^2 = 0,94$, une valeur de $R^2_{\text{ajusté}} = 0,88$ et une probabilité de manque d'ajustement non significative ($P = 3,30$).

IV.3.2.3. DPPH

Les résultats des expériences du plan BBD relatifs à l'activité antioxydante sont représentés dans le tableau le tableau IV.16.

Tableau IV.16 : Valeurs expérimentales et prédites de l'activité antioxydante (% d'inhibition de DPPH) du plan BBD

	X1 : Pourcentage d'éthanol V/V)	X2 : Temps (min)	X3 :Amplitude (%)	X3 : Ratio (mg/g)	Valeur expérimentale (%)	Valeur prédite (%)
1	75	10	60	20	53,85±1,62	56,32
2	75	10	80	30	82,62±0,93	82,06
3	75	5	60	30	80,33±0,59	77,50
4	50	10	80	40	68,92±0,07	69,20
5	100	15	80	30	27,41±0,38	26,89
6	100	10	100	30	33,42±2,82	36,58
7	50	10	80	20	79,25±0,12	78,86
8	50	15	80	30	80,29±1,66	77,21
9	75	10	80	30	82,53±1,30	82,06
10	50	10	100	30	81,29±0,67	83,30
11	75	5	80	20	51,47±0,54	51,05
12	75	10	60	40	81,60±0,12	78,95
13	100	10	80	40	33,79±0,73	30,37
14	75	15	80	40	35,71±0,07	40,51
15	100	10	80	20	30,00±0,38	25,91
16	75	5	80	40	82,93±0,23	86,96
17	50	5	80	30	80,75±0,07	80,71
18	75	15	60	30	68,20±1,28	67,63
19	50	10	60	30	79,92±1,02	81,14
20	75	15	100	30	71,87±1,4	70,89
21	75	5	100	30	80,14±1,77	76,89
22	100	5	80	30	36,74±0,13	39,26
23	75	10	100	40	58,07±0,48	55,04
24	75	10	80	30	81,02±1,78	82,06
25	100	10	60	30	33,73±0,12	36,09
26	75	10	100	20	80,79±1,40	82,88
27	75	15	80	20	81,28±0,20	81,63

a. Modèle mathématique

Le modèle mathématique approprié aux activités antioxydantes relatives aux 27 essais de l'UAE est résumé dans la relation suivante :

$$Y_{DPPH} = 62,15 - 22,94X_1 - 3,96X_2 - 19,25 X_2X_4 - 12,61X_3X_4 - 19,99X_1^2 - 6,04X_2^2 - 10,97X_4^2 \dots \dots \dots (Equation IV. 5)$$

b. Effet des facteurs**➤ Effet linéaire**

Les deux paramètres linéaires ; concentration de solvant ($P < 0.0001$) et temps d'extraction (0.0023) ont une influence significative sur l'activité antioxydante

➤ Effet quadratiques

Les effets quadratiques ($X_1 * X_1$), ($X_4 * X_4$) à ($P < 0.0001$) et ($X_2 * X_2$) à (0.0021) sont significatifs sur l'activité antioxydante. Cependant l'effet ($X_3 * X_3$) n'est pas significatif.

➤ Effet d'interaction

Les deux interactions significatives sont ($X_2 * X_4$) et ($X_3 * X_4$) avec des valeurs de ($P < 0.0001$) les autres interactions sont non significatives (figure IV. 7)

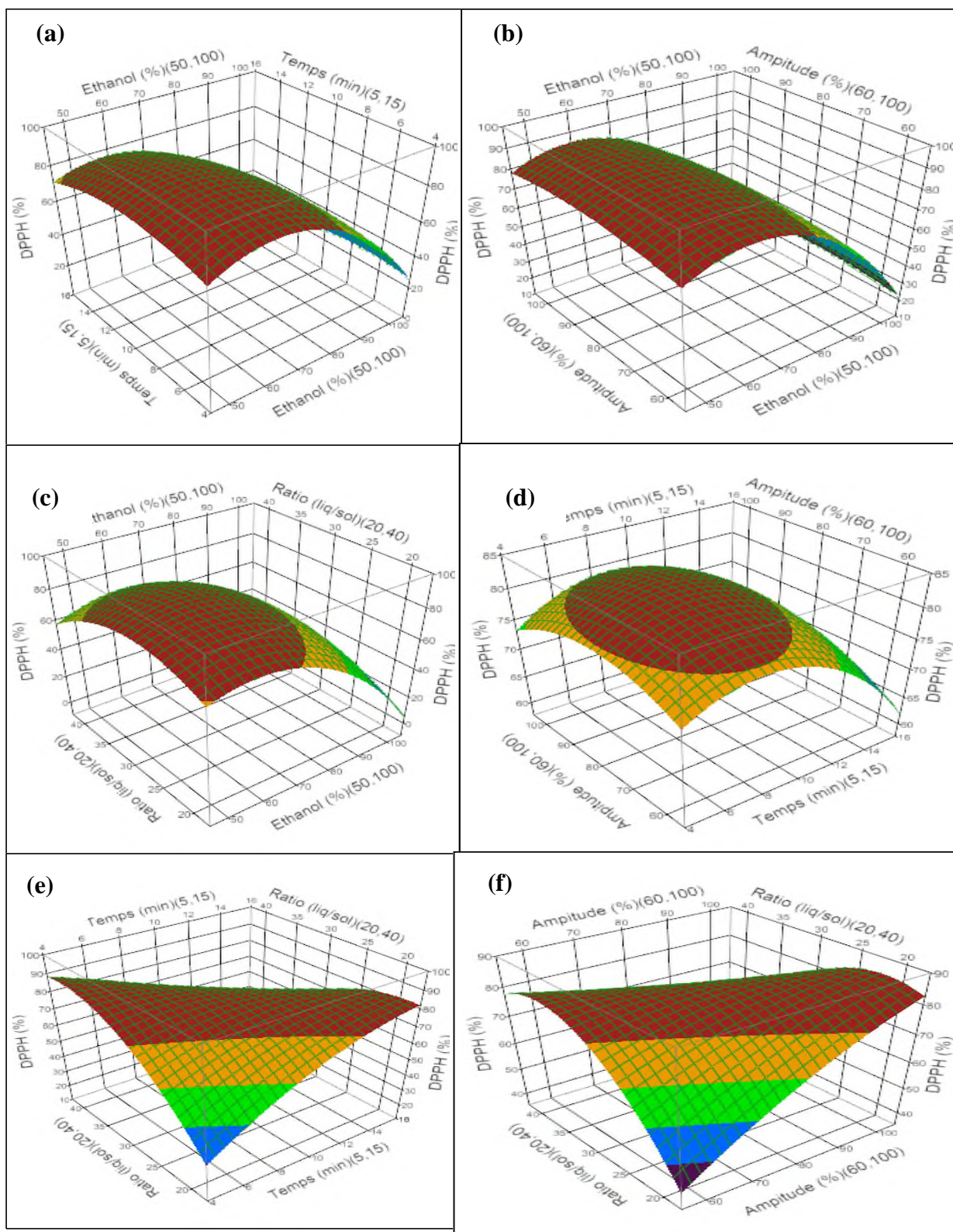


Figure IV.7: surface de réponse pour les différentes interactions sur l'activité antioxydante.

(a) : solvant/temps, (b) : solvant/puissance, (c) : solvant/ratio, (d) : puissance/temps, (e) : ratio/temps,

(f) : puissance/ratio.

c. Validation du model

Les résultats de l'analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur l'activité antioxydante sont résumés dans le tableau IV.17

Tableau IV.17 : Analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur l'activité antioxydante en utilisant le BBD de la surface de réponse

Term	Sum of Squares	t Ratio	Prob > F	F Ratio	DF	Estimate	Std Error
Intercept	795,039	39,7397	<0,0001*	62,1567	14	82,0567	2,0649
Ethanol : X1	6317,2174	-22,2235	<0,0001*	493,8846	1	-22,944	1,0324
Temps : X2	188,8133	-3,8421	0,0023*	14,7616	1	-3,9667	1,0324
Amplitude : X3	5,2669	0,6417	0,5331	0,4118	1	0,6625	1,0324
Ratio : X4	20,3320	-1,2608	0,2313	1,5896	1	-1,3017	1,0324
X1* X1	2132,4445	-12,9119	<0,0001*	166,7160	1	-19,995	1,5486
X2* X2	194,8639	-3,9032	0,0021*	15,2346	1	-6,0446	1,5486
X3* X3	41,3170	-1,7973	0,0975	3,2302	1	-2,7833	1,5486
X4 *X4	642,6472	-7,0882	<0,0001*	50,2426	1	-10,977	1,5486
X1* X2	19,6692	-1,2401	0,2387	1,5378	1	-2,2175	1,7882
X2* X3	0,7056	-0,2349	0,8183	0,0552	1	-0,4200	1,7882
X1* X3	3,7249	0,5396	0,5993	0,2912	1	0,9650	1,7882
X1* X4	49,8436	1,9740	0,0718	3,8968	1	3,5300	1,7882
X2* X4	1483,4052	-10,7691	<0,0001*	115,9737	1	-19,257	1,7882
X3* X4	636,8052	-7,0559	<0,0001*	49,7859	1	-12,617	1,7882
Lack Of Fit	151,8744		0,0515	18,7955	10		
Pure Error	1,6160			0,0515	2		
Total Error				0,9998	1		
C. Total	11284,0413				26		
R²	0,9863						
R² Adj	0,97052						
R M S E	3,57643						

Le tableau (IV.16) indique que le modèle choisi pour l'effet des facteurs sur l'activité antioxydante des extraits issus par sonication est satisfaisant ($P < 0,0001$) avec un R^2 de 0.98, une valeur de R^2 ajusté de 0.97 et une probabilité de manque d'ajustement non significative ($P = 0,051$).

En résumé, la concentration de l'éthanol et le temps d'extraction sont les deux facteurs déterminant de l'UAE pour les trois réponses investiguées, avec leurs effets linéaires significatifs et aussi en terme quadratique pour la concentration en éthanol. L'amplitude n'a pas d'influence significative sur l'UAE en terme linéaire. Cependant l'effet quadratique est significatif sur la teneur en CPT et interactif avec les différents facteurs pour les trois réponses. Le ratio solide/liquide montre un effet linéaire significatif sur la teneur en CPT et

sur la teneur en flavonoïdes mais pas sur l'activité antioxydante. Son effet quadratique n'est pas important sur la teneur en CPT mais très Significatif sur les deux autres réponses. L'interaction du ratio avec les différents facteurs est significative pour les trois réponses

IV.3.2.4. Conditions optimales

Des extractions ont été effectuées dans les conditions optimales prédites pour chaque réponse (CPT, Flavonoïdes et %DPPH) avec les modèles mathématiques MSR. Les données expérimentales et les valeurs prédites par le modèle sont représentées dans le tableau IV.18

Tableau IV.18: Conditions optimales d'UAE

	%Ethanol (% V/V)	Puissance (W)	Temps (Sec)	Ratio (ml/g)	Valeurs expérimentales	Valeurs prédites
TPC (mg EAG/g)	55,76	69,68	11,36	29,29	13,17±0,86	12,87
Flavonoïdes (mg ER/g)	84,56	57,74	14,75	27,147	5,21±0,26	6,09
DPPH (%)	61,00	81,69	8,78	30,15	85,19±1,53	88,97

Pour les trois réponses (CPT, flavonoïde, %DPPH), les valeurs expérimentales (13.17±0.86, 5.21±0.26 et 85.19±1.53) obtenues dans les conditions optimales sont proches des valeurs prédites par le logiciel (12.87 (mg EAG/g), 6.09 (mg ER/g) et 88.97(%)) respectivement. Ce qui confirme la validité des modèles choisis.

VI.4. Etude comparative entre la méthode d'extraction assistée par micro-ondes, ultrasons et la méthode conventionnelle

Les résultats des teneurs en CPT, flavonoïdes, tanins, chlorophylles *a* et *b* et caroténoïdes ainsi que les activités antioxydantes (évaluée par le test au DPPH^o, ABTS^{o+} et le pouvoir réducteur) obtenus par MAE et UAE dans les conditions optimales relatives à l'extraction des composés phénoliques totaux ont été comparés aux résultats obtenus par la méthode conventionnelle EC.

VI.4.1. Dosage des polyphénols totaux

Les teneurs en composés phénoliques totaux obtenus par MAE et UAE et EC sont représentés dans la figure (IV.8).

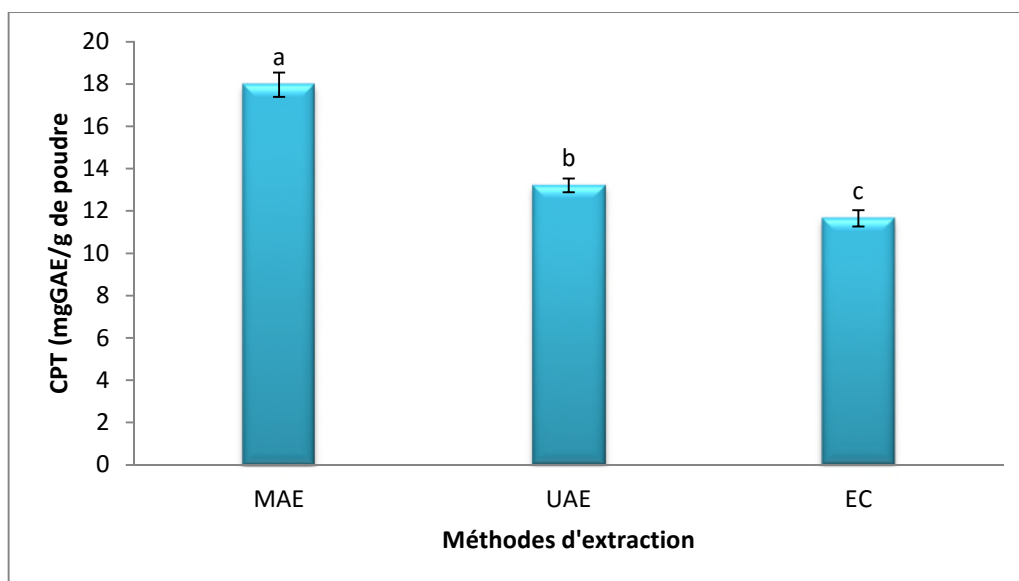


Figure IV.8: Teneurs en CPT des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC.

Selon les résultats enregistrés, la MAE donne une teneur de $17,97\pm 0,57$ mg EAG/g de poudre, supérieur à celle obtenue par l'UAE ($13,21\pm 0,32$ mg EAG/g de poudre) et par l'EC ($11,65\pm 0,39$ mg EAG/g de poudre).

Dans la plupart des cas, la MAE est plus efficace ou semblable à l'UAE en comparaison avec l'EC (Zhang *et al.*, 2008). Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par plusieurs auteurs (Hemwimon *et al.*, 2007 ; Xiao, 2008).

Cela peut être expliqué par le mécanisme d'extraction relatif à la MAE qui est un processus utilisant le solvant et l'énergie des micro-ondes pour extraire les composés cibles. L'élévation de la température et de la pression peut causer la migration de ces composés avec une vitesse plus rapide comparée à l'extraction conventionnelle (Spigno et Faveri, 2009). Cette conséquence est attribuée à l'effet thermique, qui se produit en raison de la rotation dipolaire du solvant, ce qui augmente la solubilité des composés (Hemwimon et al., 2007).

VI.4.2. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes sont très abondants dans les plantes de la famille des Apiaceae. La présence de flavonols glycosylés dans les espèces de fenouil a été signalée par He et Huang, (2011). Les teneurs en flavonoïdes obtenues par MAE et UAE dans les conditions optimales ont été comparés à celles obtenus par EC (figure IV.9).

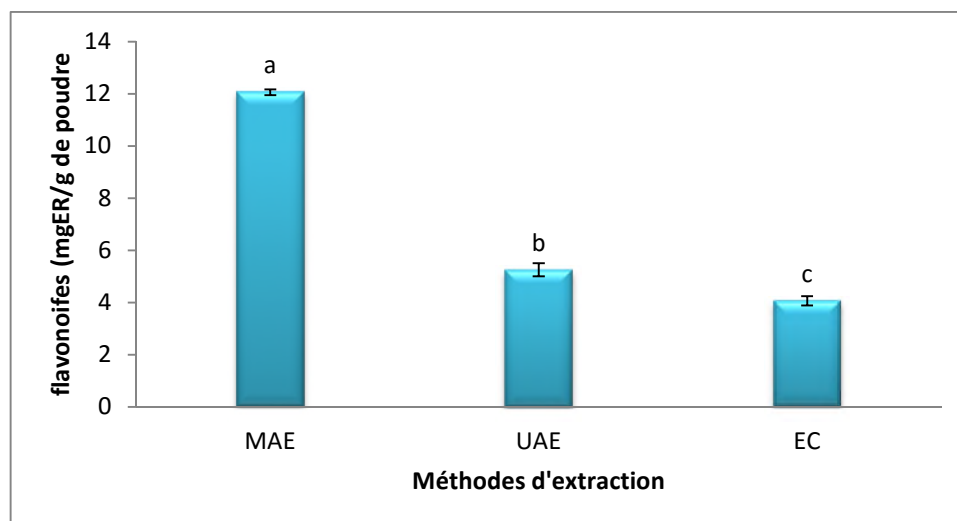


Figure IV.9 : Teneur en flavonoïdes des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC.

En ce qui concerne les flavonoïdes les concentrations enregistrées par MAE sont nettement plus élevées ($12,06 \pm 0,11$ mg ER/g de poudre) que celles obtenues par UAE ($4,25 \pm 0,25$ mg ER/g de poudre) et par EC ($4,06 \pm 0,18$ mg ER/g de poudre).

VI.4. 3. Dosage des tanins

Les teneurs en tanins obtenues par EAM et EAU et EC sont représentées dans la figure (IV.10).

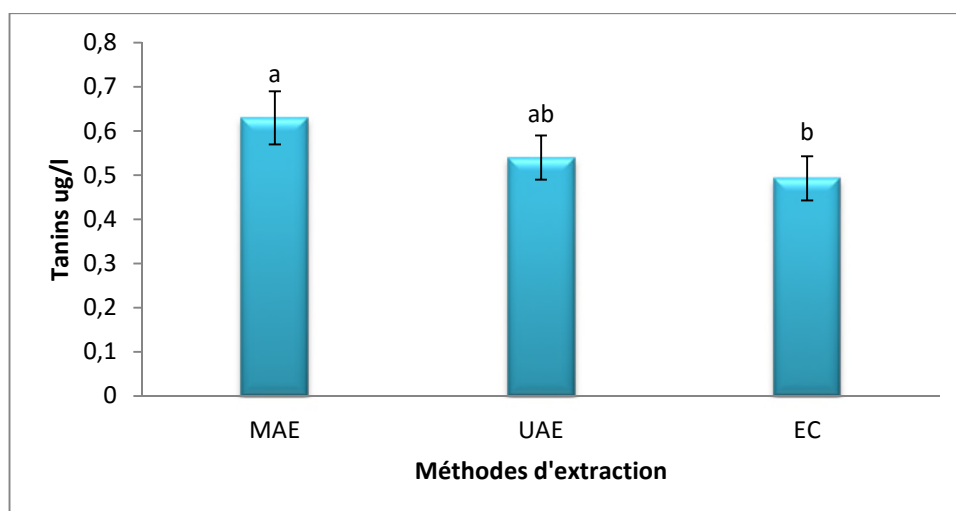


Figure IV.10: Teneur en tanins des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC.

La teneur en tanins obtenus par MAE présente la valeur la plus élevée ($0,63 \pm 0,06$ ug/l) alors que celle obtenue par UAE ($0,54 \pm 0,05$ ug/l) est légèrement supérieure à celle donnée par l'EC ($0,49 \pm 0,05$ ug/l) (pas de différence significative entre les deux méthodes).

VI.4.4. Dosage de la chlorophylle *a*, *b*, et caroténoïdes

Les résultats des teneurs en chlorophylle *a*, *b*, et caroténoïdes des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC sont illustrées par la figure IV.11.

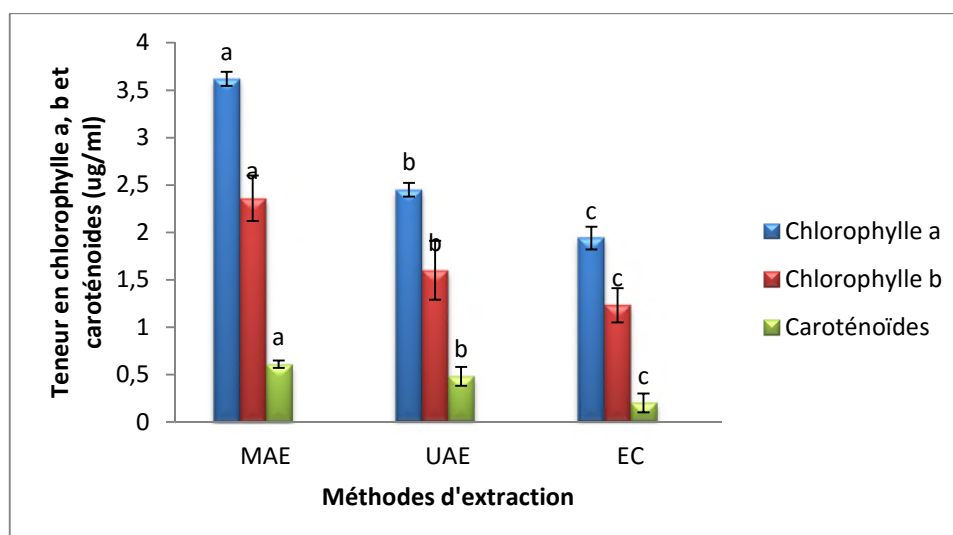


Figure IV.11 : Teneurs en chlorophylle *a*, *b*, et caroténoïdes des différents extraits obtenus par MAE, UAE et EC

Les résultats enregistrés montrent que l'extrait obtenu par MAE présente les teneurs les plus élevées en chlorophylle *a*, *b* et en caroténoïdes ($3,62 \pm 0,075$ ug/ml, $2,36 \pm 0,24$ ug/ml et

0,61±0,04 ug/ml respectivement). Suivi par l'extrait obtenu par EAU (2,45±0,073 ug/ml), (1,60±0,31 ug/ml) et (0,48±0,10 ug/ml) et en fin par celui obtenu par l'EC avec des teneurs de 1,94±0,12 ug/ml en chlorophylle *a*, 1,23±0,18 ug/ml en chlorophylle *b* et 0,20±0,10 ug/ml en caroténoïdes.

L'ensemble des résultats montrent que les micro-ondes et les ultrasons améliorent le rendement de l'extraction.

Les teneurs les plus élevées en CPT, flavonoïdes, tanins, chlorophylles *a* et *b* et caroténoïdes trouvées avec MAE peuvent être expliquées par un phénomène observé dans les cellules végétales après exposition au chauffage par micro-ondes, produisant de ce fait une pression dans les parois cellulaires qui mène par la suite à la rupture de cellules, facilitant la libération des constituants actifs dans le solvant et l'amélioration du rendement d'extraction (Ballard *et al.*, 2010).

VI.4.5. Activité anti oxydante des extraits

La capacité anti oxydante des extraits obtenus par MAE, UAE et EC est évaluée par le test au DPPH°, à l'ABTS^{°+} et le pouvoir réducteur. Les résultats sont présentés dans les figures IV.12 et IV.13.

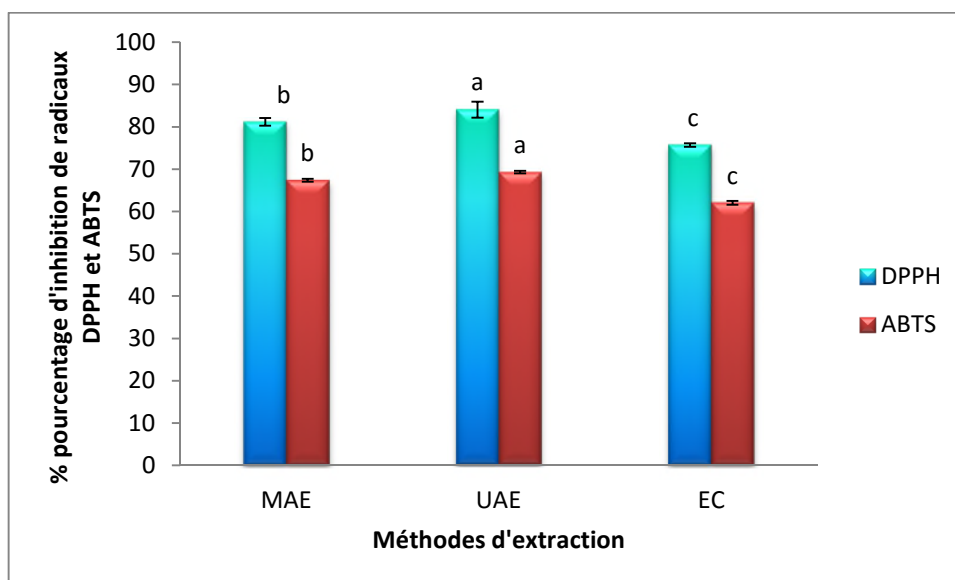


Figure IV.12: Pouvoir antioxydant des extraits obtenus par MAE, UAE et EC évalué par les tests au DPPH° et à l'ABTS^{°+}

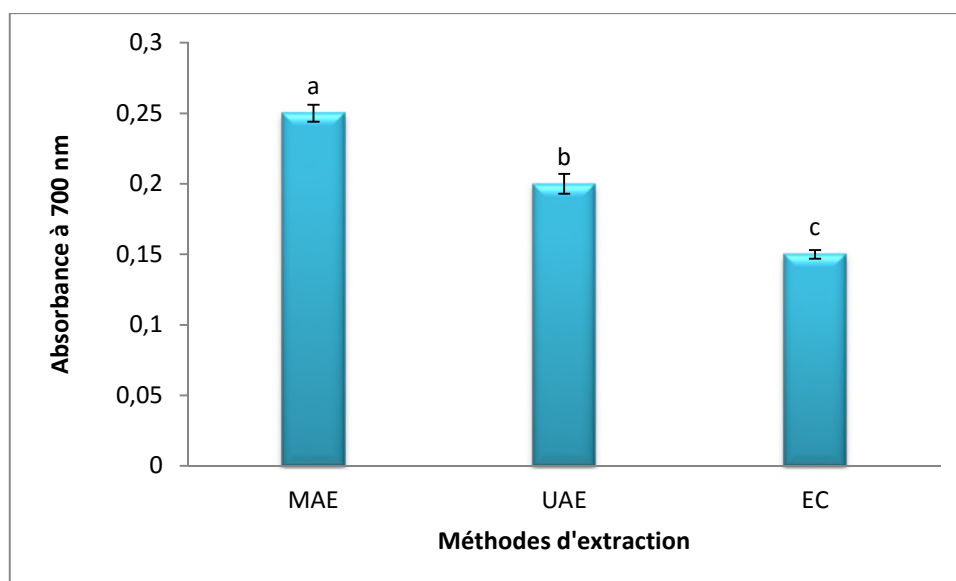


Figure IV.13: Pouvoir réducteur des extraits obtenus par MAE, UAE et EC.

Les résultats illustrés dans les figures IV.12 et IV.13 montrent que les capacités antioxydantes des extraits obtenus par les deux méthodes innovantes (MAE et UAE) sont plus élevées que celle obtenus par EC. L'extrait obtenu par UAE présente des pourcentages d'inhibition de DPPH° ($84,05 \pm 1,86\%$) et de l'ABTS° ($69,28 \pm 0,30\%$) les plus élevés.

Les activités antioxydantes (DPPH° et ABTS°) relatives à l'UAE sont supérieures à celles observées par MAE, cependant la teneur la plus élevée en CPT exprimée en (mg EAG/g) a été donnée par MAE. Un même résultat a été trouvé par **Pak-Dek et al., (2011)** qui ont suggéré que l'exposition à des températures élevées pendant MAE peut provoquer la dégradation de la fonctionnalité de certains composés bioactifs dans l'extrait, réduisant ainsi l'activité antioxydante.

Tandis que l'extrait obtenu par MAE a révélé un pouvoir réducteur plus élevé ($0,25 \pm 0,006$).

Parejo et al., (2004 a) ont montré que les composés non volatiles isolés à partir des déchets de fenouil doux présentent une forte activité scavenger, qui peut contribuer à l'interprétation des données pharmacologiques de fenouil.

VI.4.6. Etude des corrélations

L'étude des corrélations entre les résultats de l'étude comparative a été faite pour les extraits obtenus par MAE, UAE et par EC à un niveau de signification de $p < 0,05$. Ces résultats sont représentés dans le tableau 1(annexe III), dans le but d'établir la corrélation,

d'une part, entre les différentes familles des composés dosées et d'autre part, entre ces composés et l'activité antioxydante.

Des corrélations significatives ont été enregistrées entre la teneur en composés phénoliques totaux et les différents constituants ; Les corrélations les plus marquées ont été obtenues avec les teneurs en chlorophylle a ($r = 0,97$), flavonoïdes ($r = 0,96$), chlorophylle b ($r = 0,90$), tanins ($r = 0,84$) et en fin les teneurs en caroténoïdes ($r = 0,77$).

L'activité antiradicalaire du DPPH° ne présente pas de corrélation significative ni avec les teneurs en composés phénoliques totaux ni avec les autres constituants. Ce qui indique que l'activité antioxydante n'est pas seulement due aux composés phénoliques des feuilles de fenouil. L'activité antioxydante pourrait être liée à la présence d'acide ascorbique et/ou de caroténoïdes qui sont des molécules connues pour leur activité antioxydante et qui ont déjà été identifiées dans les feuilles de fenouil par **Ghasemzadeh A et al. (2012)**.

Salama et al. (2013) ont montré que l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de fenouil doux peut être due à la présence de composés phénoliques, flavonoïdes, Vitamines C et E et d'autres composants bioactifs.

L'activité antiradicalaire de l'ABTS^{°+} présente une corrélation significative avec la teneur en caroténoïdes ($r = 0,72$). Les caroténoïdes sont de puissants antioxydants capables de prévenir et d'interrompre les procédés d'oxydation en neutralisant les radicaux libres. **Prasad et al, (2011)** ont également signalé une forte corrélation entre la teneur en caroténoïdes et l'activité antiradicalaire de l'ABTS^{°+}.

L'activité antioxydante exprimée par le pouvoir réducteur présente des corrélations significatives avec les teneurs en chlorophylle a ($r = 0,96$). De même pour les teneurs en CPT ($r = 0,93$) ainsi que pour les teneurs en chlorophylle b, flavonoïdes, caroténoïdes et tanins ($r = 0,89, 0,87, 0,83$ et $0,72$ respectivement). Cette corrélation suggère une participation élevée de ces composés dans la manifestation de cette activité.

Il est important de noter aussi que l'activité antiradicalaire de DPPH° est très corrélée avec l'activité antiradicalaire de l'ABTS^{°+} ($r = 0,91$). Ces deux activités reposent sur le même principe de piégeage des radicaux libres. Cependant pas de corrélation significative entre les deux activités antiradicalaires et l'activité réductrice du fer basée sur le transfert d'électron en réduisant n'importe quel composé, incluant les métaux, les carbonyles et les radicaux libres (**Mbaiogaou et al., 2013**).

Conclusion

Conclusion

Cette étude a pour objectif d'extraire des composés phénoliques des sous-produits du fenouil (feuilles de *Foeniculum vulgare*) assisté par les micro-ondes et les ultrasons, tout en optimisant les conditions d'extraction afin d'élaborer un procédé d'extraction simple, rapide et efficace pouvant être employé à des fins analytiques et industrielles.

Un plan Box et Behnken, a été mis en place pour étudier l'effet de quatre variables indépendantes (pourcentage de l'éthanol (%), temps (sec), puissance des micro-ondes (W), amplitude des ultrasons (%) et ratio solide/liquide (mg/ml)) sur l'extraction des composés phénoliques totaux afin de définir un modèle mathématique permettant l'optimisation des conditions d'extraction. Une étude préliminaire a permis de définir les niveaux hauts et bas pour chaque facteur. Cette approche a permis de tirer les conclusions suivantes :

L'analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT, flavonoïdes et le test d'inhibition au radical DPPH°, dans le cas d'extraction assistée par micro-ondes, donne des coefficients de détermination (R^2) de 0.97, 0.94 et 0.96, respectivement. De plus, les valeurs des coefficients de détermination ajusté ($R^2_{ajustée}$) sont de l'ordre de 0.95, 0.87 et 0.91, cette analyse montre que le modèle est très significatif ($P < 0,005$) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0,05$).

Pour les modèles appliqués sur l'extraction assistée par ultrasons pour l'effet des facteurs sur les CPT, flavonoïdes et le test d'inhibition au radical DPPH°, les R^2 sont de 0.96, 0.94 et 0.98, respectivement et les valeurs de $R^2_{ajustée}$ sont de 0.92, 0.88 et 0.97, ce qui confirme la haute significativité du modèle. Le modèle global est très significatif ($P < 0,005$) et le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0,05$) par rapport à l'erreur pure, cela affirme que le modèle appliqué sur UAE est également satisfaisant.

L'optimisation de MAE par la méthode de BBD a donné des teneurs optimales en CPT de 18.18 mg EAG/g à 58 % (v/v) d'éthanol, une puissance de 550w et un ratio de 22 ml/g durant 79 sec. La teneur optimale en flavonoïde de 12.29 mg ER/g est obtenue à 83 % (v/v) d'éthanol, pour une puissance de 660w et un ratio de 20 ml/g pendant 93s. Le test d'inhibition du radical DPPH° est de 81.87% avec l'éthanol 75 % (v/v), à 600w de puissance, et un ratio de 26 ml/g durant 60 sec.

Le même procédé d'optimisation est appliqué sur UAE et a donné les résultats suivant :

Une teneur optimale en CPT de 13.17 mg EAG/g à 56 % (v/v) d'éthanol, une amplitude de 70% et un ratio de 29 ml/g pour un temps de 11 min. Et une teneur optimale en flavonoïde de 5.21 mg ER/g à 85 % (v/v) d'éthanol, une amplitude de 60 et un ratio de 27 ml/g pendant

15 min et un pourcentage d'inhibition du radical DPPH de 85.19% à 60 % (v/v) d'éthanol, 80% d'amplitude et un ratio de 30ml/g en 8 min.

Les conditions optimales obtenues par l'optimisation des conditions d'extraction des CPT pour MAE et UAE ont été comparées, en matière de rendement, à la méthode conventionnelle, utilisant un procédé d'agitation. Il en résulte que les méthodes par micro-ondes et ultrasons donnent un meilleur rendement que la méthode traditionnelle avec un temps d'extraction réduit (79sec pour MAE et 12min pour UAE contre 1h pour EC).

L'ensemble des résultats obtenus sur les teneurs en différents composés phénoliques (CPT, flavonoïdes, tanins) , chlorophylles (a, b) et en caroténoïdes ainsi que la capacité anti oxydante des extraits évaluée par les tests au radical DPPH° et ABTS° et le pouvoir réducteur montre que les micro-ondes et les ultrasons améliorent le rendement de l'extraction.

Ces procédés optimisés qui sont simples, rapides, efficaces et non dénaturants peuvent être employés pour l'extraction des substances d'intérêt aussi bien dans les travaux de recherche que dans le domaine industriel à des fins technologiques et pharmaceutiques.

En perspective, nous suggérons :

- ❖ Une optimisation d'autres paramètres influençant le taux d'extraction des CPT tel que le pH, la granulométrie des particules et la température,..., etc.
- ❖ Une étude étendue à d'autres parties de la plante (tiges, fleurs, graines et bulbe).
- ❖ Une caractérisation qualitative et quantitative des CPT.
- ❖ Une purification de ces composés en faisant des essais *in vivo*.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- Abdulghani, A. S., et Amin, R. (1988). The vascular action of aqueous extracts of *Foeniculum vulgare* leaves. *Journal of Ethnopharmacology*, 24, 213–218.
activity of Fennel (fruits of *Foeniculum vulgare*) extract: a double-blind placebo controlled study. *Phytomedicine* 10, 455–458
- Agnieszka Waśkiewicz, Małgorzata Muzolf-Panek et Piotr Goliński. (2013). Phenolic Content Changes in Plants Under Salt Stress. Chapter 11 IN Ahmad P. et al., *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress*, *Springer Science-Business Media*. 10.1007/978-1-4614-4747-4_11
- Akgull Attila et Bayrak Ali. (1988). Comparative volatile oil composition of various parts from Turkish bitter fennel (*Foeniculum vulgare* var *vulgare*). *Food chemistry*, 30 -319-323.
- Albert-Puleo M. (1980). Fennel and anise as estrogenic agents. *J Ethnopharmacol*, 2:337-344.
- Alfaro, M. J., Belanger, J. M. R., Padilla, F. C., & Pare, J. R. J. (2003). Influence of solvent, matrix dielectric properties, and applied power on the liquid-phase microwave assisted processes (MAP (TM)) extraction of ginger (*Zingiber officinale*). *Food Research International*, 36(5), 499–504.
- Alkurd A., Hamed T. R., Al-Sayyed H. (2008). Tannin Contents of Selected Plants Used in Jordan. *Jordan Journal of Agricultural Sciences* 4: 265 - 274.
- Alessandro, A., Casazza Bahar Aliakbarian., Stefano Mantegna., Giancarlo Cravotto , Patrizia Perego . (2010). Extraction des composés phénoliques de *Vitis vinifera* déchets en utilisant des techniques non conventionnelles. *Journal of Food Engineering*, 100(1), 50-55.
- Atta-Aly, M. A. (2001). Fennel swollen base yield and quality as affected by variety and source nitrogen fertilizer. *Scientific Horticulture*, 88, 191–202.
- Badoc, A. LamartI, G. Bourgeoi, J.-P. Carde, G . Deffieux. (1995). *Soc. Pharm. Bordeaux*, 134, 107-126.
- Ballard, T.S., Mallikarjunan, P., Zhou, K., O’Keefe, S., (2010). Microwave-assisted extraction of phenolic antioxidant compounds from peanut skins. *Food Chemistry* 120, 1185-1192.
- Barazani O., Cohen Y., Fait A., Diminshtein S., Dudai N., Ravid, U. Putievsky E., Friedman J. (2002). *Biochem. Syst. Ecol.* 30 -721.

- Barros Lillian, Ana Maria Carvalho, Isabel C.F.R. Ferreira (2010). The nutritional composition of fennel (*Foeniculum vulgare*): Shoots, leaves, stems and inflorescences, *LWT - Food Science and Technology* 43 .814–818.
- Bensadón S., Hervert-Hernández D., Sáyago-Ayerdi S.G. et Goñi I. (2010). By-Products of *Opuntia ficus-indica* as a Source of Antioxidant Dietary Fiber. *Plant Food human nutrition*.65, 210–216.
- Bezerra M A, Santelli, R E, Oliveira, E P, Villar, L S, & Escaleira, L A. (2008). Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965-977.
- Bonnailli C., Salacs M., Vassiliova E. et Saykova I.(2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). *Revue de génieindustriel*. 7, 35-45.
- Boskabady MH, Khatami A, Nazari A. Possible mechanism(s) for relaxant effects of *Foeniculum vulgare* on guinea pig tracheal chains. *Pharmazie* 2004;59:561-564.*Trends in analytical chemistry*, 19, 229-248.
- Bougrin K., Loupy A. et Soufiaui M. (2005). Microwave-assited solvent-free heterocyclic synthesis. *Journal photochem photobiol*. 6, 139-167.
- Boulekbache L., Slimani S., Madani K. (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops an Products* 41: 85– 89.
- Bozkurt, H. et Icier, F. (2010). Ohmic cooking of ground beef: Effects on quality. *Journal of Food Engineering*, 96(4): 481-490.
- Bruneton, J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, 1120.
- Bryan R. Mosera, Valtcho D. Zheljzkovb, Erica L. Bakotaa, Roque L.Evangelistaa,Archana Gawdec, Charles L. Cantrellc, Jill K. Winkler-Mosera,Alexander N. Hristovd, Tess Astatkiee, Ekaterina Jeliaskova. (2014).Method for obtaining three products with different properties from fennel (*Foeniculum vulgare*) seed, *Industrial Crops and Products* 60- 335–342.
- Camel, V. (2000). Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. *trends in analytical chemistry*, 19(4).229–248.
- Carvalho, A. M. (2005). Etnobotánica del Parque Natural de Montesinho. *Plantas*,

- tradición y saber popular en un territorio del nordeste de Portugal. Madrid: Universidad Autónoma.
- Catizone P, Marotti M, Toderi G et Tetenyi P. (1990). Culture des plantes médicinales et aromatiques.
 - Chan Chung-Hung, Rozita Yusoff, Gek-Cheng Ngoh. (2013) Food Chemistry. 140: 147–153 Modeling and prediction of extraction profile for microwave-assisted extraction based on absorbed microwave energy.
 - Chandrasekaran S, Ramanathan S, Basak T (2013). Microwave food processing. A review. Food Research International, 52:243.
 - ChavanYogita et SinghalRekha S. (2013). Ultrasound-assisted extraction (UAE) of bioactives from arecanut (Areca catechu L.) and optimization study using response surface methodology. Innovative Food Science and Emerging Technologies 17-106–113. *Chem.*, 99, 14195– 14197.
 - 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.
 - Chong, J., Poutaraud, A., & Hugueney, P. (2009). Metabolism and roles of stilbenes in plants. *Plant Science*, 177(3), 143-155.
 - Choi Eun-Mi et Hwang Jae-Kwan. (2004). Antiinflammatory, analgesic and antioxidant activities of the fruit of *Foeniculum vulgare*. *Fitoterapia* 75-557 – 565
 - Chupina L, Maunub S.L, Reynaud S, Pizzi A, Charrier B, Charrier-EL Bouhtourya F. (2015). Microwave assisted extraction of maritime pine (*Pinus pinaster*) bark: Impact of particle size and characterization. *Industrial Crops and Products* 65-142–149.
 - Dadalioglu I, Evrendilek GA (2004). Chemical compositions and antibacterial effects of essential oils of Turkish oregano (*Origanum minutiflorum*), bay laurel (*Laurus nobilis*), Spanish lavender (*Lavandula stoechas* L.) and fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) on common foodborne pathogens. *J Agric Food Chem* 52: 8255–60.
 - Dahmoune, F., Boulekbache, L., Moussi, K., Aoun, O., Spigno, G., Madani, K., (2013). Valorisation of citrus limon residues for the recovery of antioxydants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction. *Industrial Crops and Products* 50, 77–87.
 - Datta A.K et Anantheswaran R.C (2001). Handbook of Microwave Technology for Food Applications. Marcel Dekker, New York, United States.

- De Rijke E., Out P., Niessen W M A., Ariese F., Gooijer C., Brinkman U A T. (2006). Analytical separation and detection methods for flavonoids. *Journal of Chromatography*.1112: 31 - 63.
- Diaaz-Maroto MC, Pearez-Coello MS, Esteban J, Sanz J. (2006). Comparison of the volatile composition of wild fennel samples (*Foeniculum vulgare* Mill.) from Central Spain. *J Agric Food Chem*,54:6814–8.
- Diao Wen-Rui, Hua Qing-Ping, Zhang Hong, Xu Jian-Guo. (2014). Chemical composition, antibacterial activity and mechanism of action of essential oil from seeds of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) *Food Control* 35-109-116.
- Dressen M. (2009). Microwave heating in fine chemical applications: role of heterogeneity. Thesis of Eindhoven University of Technology, Netherlands.
- Dupont F et Guignard J.L. (2007). *systematique moléculaire, abrégé de botanique*. 14e édition, masson, issy-les-moulineaux, 285 pp.
- Dudonné, Sp., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., Mérillon, J-M., (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(5):1768-1774.
- Dupont, F., Guignard, J.L. (2007). *Abrèges botanique systematique moléculaire*. 14ème édition révisée, Masson.
- El-Soud, N.A., El-Laithy, N., El-Saeed, G., Wahby, M.S., Khalil, M., Morsy, F., Shaffie, N.(2011). Antidiabetic activities of *Foeniculum vulgare* Mill. Essential oil in Streptozotocin induced diabetic rats. *Macedonian J. Med. Sci.* 173, 1857–5773.
- Ennadir J, Hassikou R, Bouazza F, Arahou M, Askari G.A, Khedid K.(2014). Évaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits aqueux et organiques des graines de *Nigella sativa* L. et de *Foeniculum vulgare* Mill. *Phytothérapie* 12:302-308.
- Esclapez MD, Saez V, Milan-Yanez D, Tudela I, Louisnard O, Gonzalez-Garcia J. (2010). Sonoelectrochemical treatment of water polluted with trichloro acetic acid: from sonovoltammetry to pre-pilot plant scale. *Ultrason Sonochem* 17:1010–1020.
- Eskilsson, S, C. and Björklund, E. (2000) Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, 902 (1), 227-250
- Farhoosh, R., Khodaparast, M. H. H., et Sharif, A. (2009). Bene hull oil as a highly stable and antioxidative vegetable oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111, 1259–1265.

- Faudale, M., Viladomat, F., Bastida, J., Poli, F., Codina, C. (2008). Antioxidant activity and phenolic composition of wild, edible, and medicinal fennel from different mediterranean countries. *J. Agric.Food Chem.* 56, 1912–1920.
- Galema, Saskia. (1997). Microwave chemistry. *Chemical Society Reviews*, vol. 26, p.233-238.
- Gallawa, J. C. (2007).The Complete Microwave Oven Service Handbook .Microtech, Florida.
- Galván Leandro D’Alessandro, Krasimir Dimitrov, Peggy Vauchel.(2 0 1 3). Kinetics of ultrasound assisted extraction of anthocyanins from *Aronia melanocarpa* (black chokeberry) wastes, *Jordan Nikov Laboratoire. chemical engineering research and design*.
- Garner J. (1996). les huiles essentielles. Techniques de l’ingénieur, K 345, Paris.
- 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.
- Ghasemzadeh, A., Azarifar, Maryam, Soroodi, Omid, Jaafar, Hawa Z.E., 2012. Flavonoid compounds and their antioxidant activity in extract of some tropical plants. *Journal of Medicinal Plants Research* 6 (13), 2639–2643.
- Ghodsi Zahra, Asltoghiri Maryam . *J Pediatr Adolesc Gynecol* 27 (2014) 283e286. The Effect of Fennel on Pain Quality, Symptoms, and Menstrual Duration in Primary Dysmenorrhea
- Girre L. (2006). Les plantes et les médicaments : l’origine végétale de nos médicaments, Delachaux et Niestlé, Paris, 253 pp.
- Gross M, Efraim Lewinsohn, Yaakov Tadmor, Einat Bar, Nativ Dudai, Yael Cohen, Jacob Friedman. (2009).The inheritance of volatile phenylpropenes in bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*, Apiaceae) chemotypes and their distribution within the plant. *Biochemical Systematics and Ecology* 37 308–316.
- Gross, M., Friedman, J., Dudai, N., Larkov, O., Cohen, Y., Bar, E., Ravid, U., Putievsky, E., Lewinsohn, E., (2002). Biosynthesis of estragole and t-anethole in bitter fennel (*Foeniculum vulgare* Mill. Var. *vulgare*) chemotypes. Changes in SAM: phenylpropene O-methyltransferase activities during development. *Plant Sci.* 163,1047–1053.
- Guignard J.L. (1996). Abrégé de biochimie végétale, Ed. *Masson*, Paris, 160.

- Guilliin M. D. Manzanos M. J. (1996). A study of several parts of the plant *Foeniculum vulgare* as a source of compounds with industrial interest. *Food Research International*, . 29, 1, 85-88.
- Gurinder Jeet Kaur and Daljit Singh Arora. (2010). Bioactive potential of *Anethum graveolens*, *Foeniculum vulgare* and *Trachyspermum ammi* belonging to the family Umbelliferae - Current status. *Journal of Medicinal Plants Research*. 4(2), 087-094.
- Haddar Wafa , Imen Elksibia, Nizar Meksia,b, M. Farouk Mhenni. (2014). Valorization of the leaves of fennel (*Foeniculum vulgare*) as natural dyes fixed on modified cotton: A dyeing process optimization based on a response surface methodology. *Industrial Crops and Products* 52-588– 596.
- Harborne, J.B., Saleh, N.A.M., (1971). Flavonol glycoside variation in fennel (*Foeniculum vulgare*). *Phytochemistry* 10, 399–400.
- He Weiping et Huang Baokang. (2011). A review of chemistry and bioactivities of a medicinal spice: *Foeniculum vulgare*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(16), 3595-3600.
- Hemwimol, S., Pavasant, P., et Shotipruk, A. (2006). Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13,543–548.
- Hemwimon S., Pavasant P., Shotipruk A., (2007). Microwave-assisted extraction of antioxidative anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*, *Sep. Purif. Technol.* 54, 44–50.
- Hernandez-Pérez T., Carrillo-Lopez A., Guevara -Lara F., Cruz-Hernandez A. et Paredes-Lopez O. (2005). Biochemical and Nutritional Characterization of Three Prickly Pear Species with Different Ripening Behavior. *Plant Foods for Human Nutrition*. 60, 195–200.
- Huang Wen, An Xue, Hai Niu, Zhen Jia , Jiawen Wang, Optimised (2009). Ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. *Food Chemistry*. 114.1147–1154.
- Iqbal M.N., Asgeher M. and Bhatti H.N. (2011). Lignin degrading enzymes. *Bioresources*, (22) 1273-1287.
- Izella S. (2009). cavitation par excitation acoustique bifréquentielle : application à la thrombolyse ultrasonore. école doctorale mécanique, énergétique, génie civil & acoustique. 18-30.

- Javidnia, K., Dastgheib, L., Samani, S.M., Nasiri, A., (2003). Antihirsutism activity of Fennel (fruits of *Foeniculum vulgare*) extract: a double-blind placebo controlled study. *Phytomedicine* 10, 455–458.
- Jian-Bing, J., Xiang-hong, L., Mei-qiang, C., and Zhi-chao, X. (2006). Improvement of leaching process of Geniposide with ultrasound. *Ultrasonics Sonochemistry*, 13, 455–462.
- Joganath IB et Crozier A. (2010). Dietary flavonoids and phenolic compounds. In: Fraga G (ed) *Plant phenolics and human health*. Wiley, Hoboken, pp 1–50
- Joly, Nicolas. (2003). Synthèse et caractérisation de nouveaux films plastiques obtenus par acylation et réticulation de la cellulose. Thèse de doctorat, Limoges, Université de Limoges, 166 p.
- Joshi H, Parle M. (2006). Cholinergic basis of memory-strengthening effect of *Foeniculum vulgare* Linn. *J Med Food*;9:413-417.
- kaddem salah eddine. (1991). *Les plantes médicinales en Algérie*
- Kaur, G.J., Arora, D.S., (2008). In-vitro antibacterial activity of three plants belonging to the family Umbelliferae. *Int. J. Antimicrob. Agents* 31, 393–395.
- Khennouf S., Iratni N., Baghniyani A., Mrzallah D., and Arrar L., (2010) .Antioxydant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* A s so. Leaves and some phenolic compounds. *Journal of medicinal plants research*. 4 (13): P 1273-1280.
- Khizar H., Xiaoming Z., Umar F., Shabbar A., Shuqin X., Chengsheng J., Fang Z. et Jing Zhang.(2010). Effect of microwave treatment on phenolic content and antioxidant activity of citrus mandarin pomace. *Food Chemistry*.123, 423–429.
- Krizman Mitja, et al. (2007). Determination of phenolic compounds in fennel by HPLC and HPLC–MS using a monolithic reversed-phase column, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 43-481–485.
- Kuijpers MWA, Kemmere MF, Keurentjes JTF. (2002). Calorimetric study of the energy efficiency for ultrasound-induced radical formation. *Ultrasonics* 40:675–678
- Laugier F. (2007). *les ultrasons en procédés polyphasiques: transfert gaz-liquide et réaction liquide-liquide*. thèse de génie des procédés et de l'environnement, l'institut national polytechnique de Toulouse.
- Lazouni H. A, Benmansour A, Chabane Sari D et Smahi M. Dj. E. (2006). Valeurs nutritives et toxicité du *foeniculum vulgare* miller, *Afrique SCIENCE* 02(1) -94 – 101.

- Lee, S.H. (2004). Acaricidal activity of constituents identified in *Foeniculum vulgare* fruit oil against *Dermatophagoides* spp. (Acari: Pyroglyphidae). *J. Agric. Food Chem.* 52, 2887–2889.
- Leighton T.G (2007). What is ultrasound, *Prog Biophys Mol Biol.* 93:3–83.
- Lepoint T. et Mullie F.(1994), *Ultrason. Sonochem.,1*, S13–S22.
- Li H, Pordesimo L, Weiss J (2004) High intensity ultrasoundassisted extraction of oil from soybeans. *Food Res Int* 37:731–738.
- Lichtenthaler, H.K. (1982). Synthesis of prenyllipids in vascular plants (including chlorophylls, carotenoids, prenylquinones). In *CRC Handbook of Biosolar Rescrouces*, 1.405-421.
- Lucchesi, M. (2005). *Extraction Sans Solvant Assistée par Micro-ondes Conception et Application à l'extraction des huiles essentielles*. Université de la REUNION, France.
- Lucinewton S. Mouraa, Raul N. Carvalho Jr. a, Mirian B. Stefanini b, Lin C. Mingb, M. Angela A. Meireles. Supercritical fluid extraction from fennel *Foeniculum vulgare*): global yield, composition and kinetic data. *J. of Supercritical Fluids* 35 (2005) 212–219.
- 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.
- Mahmoud Yolmeh., Mohammad B., Habibi Najafi., Reza Farhoosh. (2014) Optimisation of ultrasound-assisted extraction of natural pigment from annatto seeds by response surface methodology (RSM). *Food Chemistry* 155, 319–324.
- Mandal, V., Mohan, Y. and Hemalatha, S. (2007) Microwave assisted extraction an innovative and promising extraction tool for medicinal plant research. *Pharmacognosy Reviews*, 1(1), 7-18.
- Mason T. et Lorimer J. (1988). *Sonochemistry: theory, application and uses of ultrasound in chemistry*, Ellis Horwood limited, p.32.
- Mata, A.T., Proenca, C., Ferreira, A.R., Serralheiro, M.L.M., Nogueira, J.M.F., Araujo, M.E.M., (2007). Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chemistry* 103, 778–786.
- Mawson R et Knoerzer K. (2007). *A brief history of the application of ultrasonics in food processing*.

- Mbaïogaou, A., Hema, A., Ouedraogo, M., Pale, E., Naitormbaide, M., Mahamout, Y., et Nacro, M. (2013). Etude comparative des teneurs en polyphénols et en antioxydants totaux d'extraits de graines de 44 variétés de voandzou (*Vigna subterranea* (L.) Verdcourt). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 7(2), 861-871.
- Mithun BH Pai , GM Prashant, KS Murlikrishna, KM Shivakumar , GN Chandu (2010). L'efficacité antifongique de *Punica granatum* , *Acacia nilotica* , *Cuminum cyminum* et *Foeniculum vulgare* sur *Candida albicans* : Une étude *in vitro*, 21, 3, 334-336.
- Moubarik Amine. (2011). Kinetic model of solute aqueous extraction from Fennel (*Foeniculum vulgare*) treated by pulsed electric field, electrical discharges and ultrasonic irradiations, *food and bioproducts processing* 89-356–361.
- Munir Oktay, I'hami Gulcin, O Irfan Kufrevioglu .Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts, *Lebensm.-Wiss. U.-Technol.* 36 (2003) 263–271.
- 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.
- Ono, M., Ito, Y., Ishikawa, T., Kitajima, J., Tanaka, Y., Niiho, Y., Nahara, T. (1996). Five new monoterpene glycoside and other compound from *Foeniculi fructus* (fruit of s). *Chemical and Pharmaceutical Bulletin* 44, 337–342.
- Ostad S.N, Soodi M , Shariffzadeh M , Khorshidi N, Marzban H. (2001). The effect of fennel essential oil on uterine contraction as a model for dysmenorrhea, pharmacology and toxicology study. *Journal of Ethnopharmacology* 76-299–304.
- Ozbek H, Ura S, Dülger H, Bayram I, Tuncer I, Oztürk G. (2003). Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil. *Fitoterapia*;74:317-319.
- Pai, M.B., Prashant, G.M., Murlikrishna, K.S., Shivakumar, K.M., Chandu, G.N., 2010. Antifungal efficacy of *Punica granatum*, *Acacia nilotica*, *Cuminum cyminum* and *Foeniculum vulgare* on *Candida albicans*: an in vitro study. *Indian J. Dental Res.* 21 (3), 334–336.
- Pak-Dek Mohd Sabri , Osman Azizah, Gooda Sahib Najla, Saari Nazamid, Markom Masturah, Abdul Hamid Azizah et Anwar. (2011). Farooq. Effects of extraction

- techniques on phenolic components and antioxidant activity of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) leaf extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*. 5(20), 5050-5057.
- Pan P, Me C, Wang M, Ji V, Wang K, Liu P., (2010): antioxidant activity of microwave assisted extract of *Budellia officinalis* and its major active compounds. *Food chem.* 121, 497-502.
 - Prasad, K. N., Chew, L. Y., Khoo, H. E., Yang, B., Azlan, A., & Ismail, A. (2011). Carotenoids and antioxidant capacities from *Canarium odontophyllum* Miq. fruit. *Food Chemistry*, 124(4), 1549-1555.
 - Parejo Irene, Francesc Viladomat, Jaume Bastida, Guillermo Schmeda-hirschmann, Jesuã s Burillo, and Carles Codina. (2004). (a). bioguided isolation and identification of the nonvolatile antioxidant compounds from fennel (*foeniculum vulgare* mill.) waste. *j. agric. food chem.* 52, 1890–1897.
 - Parejo Irene, Francesc Viladomat, Jaume Bastida, Carles Codina. (2004). (b). Development and validation of a high-performance liquid chromatographic method for the analysis of antioxidative phenolic compounds in fennel using a narrow bore reversed phase C18 column. *Analytica Chimica Acta* 512, 271–280.
 - Perreux, L, et Loupy, A. (2001). A tentative rationalization of microwave effects in organicsynthesis according to the reaction medium and mechanistic considerations. *Tetrahedron*, 9199-9223.
 - Philip, S., et Christina, A. (2000). *Organic chemistry*. California: Prentice Hall.
 - Pradhan, M., Sribhuwaneswari, S., Karthikeyan, D., Minz, S., Sure, P., Chandu, A.N., Mishra, U., Kamalakannan, K., Saravanankumar, A., Sivakumar, T. (2008). In-vitro cytoprotection activity of *Foeniculum vulgare* and *Helicteres isora* in cultured human blood lymphocytes and antitumour activity against B16F10 melanoma cell line. *Res. J. Pharm. Technol.* 1 (14), 450–452.
 - Prakash M.J, Manikandan S, Vigna Nivetha C, Dinesh R. (2013). Ultrasound assisted extraction of bioactive compounds from *Nephelium lappaceum* L. fruit peel using central composite face centered response surface design. *Arabian Journal of Chemistry*.
 - Raffo, A., Nicoli, S., Leclercq, C., (2011). Quantification of estragole in fennel herbal teas: implications on the assessment of dietary exposure to estragole. *Food Chem.Toxicol.* 49, 370–375.

- Rather Manzoor A, Bilal A Dar , Sofi Shahnawaz N , Bilal A. Mushtaq A Bhat, Qurishi. (2012). *Foeniculum vulgare*: A comprehensive review of its traditional use, phytochemistry, pharmacology, and safety. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Rawson Ashish, Mohammad B. Hossain, Ankit Patras, Maria Tuohy, Nigel Brunton (2013). Effect of boiling and roasting on the polyacetylene and polyphenol content of fennel (*Foeniculum vulgare*) bulb, *Food Research International* 50 -513–518.
- Re Roberta. Nicoletta, P., Anna P., Ananth P., Min Y. And Catherine, R., (1998). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation depolarization assay. *Free Radical Biology & Medicine*. 9(10), 1231-1237.
- Reduron Jean-Pierre. (2007). *Ombellifères de France -Tome 3, Bulletin de la Société Botanique du Centre-Ouest - Nouvelle Série - Numéro spécial – 28.*
- Rezaie Mitra , Farhoosh Reza, Iranshahi Mehrdad , Sharif Ali , Golmohamadzadeh. (2015). Ultrasonic-assisted extraction of antioxidative compounds from *Bene* (*Pistacia atlantica* subsp. *mutica*) hull using various solvents of different physicochemical properties. *Food Chemistry*. 173, 577–583
- Ribereau-Gayon PP., (1982). Incidences oenologiques de la pourriture du raisin 1. *EPPO Bulletin* 12, (2): 201-214.
- Rimando AM, Kalt W, Magee JB, Dewey J, Ballington JR (2004) Resveratrol, pterostilbene, and piceatannol in *Vaccinium* berries. *J Agric Food Chem* 52:4713–4719.
- Robya Mohamed Hussein Hamdy, Mohamed Atef Sarhana, Khaled Abdel-Hamed Selima, Khalel Ibrahim Khalela. (2013). Antioxidant and antimicrobial activities of essential oil and extracts of fennel (*Foeniculum vulgare* L.) and chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). *Industrial Crops and Products* 44,437– 445.
- Rochebrochard d’Auzay Samuel De La, J.F. Blais, E. Naffrechoux. (2010). Comparison of characterization methods in high frequency sonochemical reactors of differing configurations. *Ultrason. Sonochem.*, 17,547–554.
- Rodríguez-Solana Raquel, José Manuel Salgado, José Manuel Domínguez, Sandra Cortés-Diéguez. (2014). Characterization of fennel extracts and quantification of estragole: Optimization and comparison of accelerated solvent extraction and Soxhlet techniques. *Industrial Crops and Products* 52 -528– 536.
- Romdhane M, Gourdon C (2002). Investigation in solid–liquid extraction: influence of ultrasound. *Chem Eng J* 87:11–19.

- Şahin, S., et Şamlı, R. (2013). Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology. *Ultrasonics sonochemistry*, 20(1), 595-602.
- Sahin, S. et Sumnu, S. G. (2006). "Physical Properties of foods." Ed Springer Science, Turkey.
- Salama Zeinab A , El Baz Farouk K, Gaafar Alaa A , Fathy Zaki Mohamed. (2015). Antioxidant activities of phenolics, flavonoids and vitamin C in two cultivars of fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) in responses to organic and bio-organic fertilizers. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*.14, 91–99.
- Saleh N.A.M., El-Negoumy S.I., El-Hadidi M.N.et Hosni H.A. (1983) .Comparative study of the flavonoids of some local members of the umbelliferae .*Phytochemistry*, 22, 6, 1417- 1420.
- Sanchez-Moreno C., (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Int. J. Food Sci. Technol.*, 8, 121-137
- Seidi S, Yamini Y. Analytical sonochemistry. developments, applications, and hyphenations of ultrasound in sample preparation and analytical techniques. *Central European Journal of Chemistry*. 10:938.
- Serpone N, Colarusso P. Sonochemistry I. Effects of ultrasounds on heterogeneous chemical reactions—a useful tool to generate radicals and to examine reaction mechanisms. *Res Chem Intermed*.1994;20:635.
- Shahat, A.A., Ibrahim, A.Y., Hendawy, S.F., Omer, E.A., Hammouda, F.M., Rahman, F.H.A., Saleh, M.A. (2011). Chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of essential oils from organically cultivated fennel cultivars. *Molecules* 16, 1366– 1377.
- Shon M.Y, Kim T.H, Sung N.J., (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*. **82**, 593–597.
- Shotipruk, A., Kaufman, B., and Wang, Y. (2001). Feasibility study of repeated harvesting of menthol from biologically viable *Mentha piperata* using ultrasonic extraction. *Biotechnology Progress*, 17, 924–928.
- Sillanpa M et al. (2011). *Ultrasound Technology in Green Chemistry*, Springer Briefs in Green Chemistry for Sustainability, DOI: 10.1007/978-94-007-2409-9

- Simandi Bela, Deak Andras, and Ronyai Erika. (1999) Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Fractionation of Fennel Oil *J. Agric. Food Chem*, 47, 1635–1640.
- Simona De Marino, et al (2007). Phenolic glycosides from *Foeniculum vulgare* fruit and evaluation of antioxidative activity , *Phytochemistry* 68 -1805–1812
- Singleton, V.L, Rossi, J.A., (1965) .Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdicphosphotungstic acid reagents. *Am.j.End. Vitic* 16, 144-158.
- Spigno G., et De Faveri D.M. (2009). Microwave-assisted extraction of tea phenols: aphenomenological study. *Journal of Food Engineering*. 93, 210–217.
- Stefanini, M.B, Ming, L.C, Marques M, Facanali R, Meireles M, Moura L.S, Marchese J.A, Sousa L.A. (2006). Essential oil constituents of different organs of fennel (*Foeniculum vulgare* var. *vulgare*).. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.8, n.esp., p.193-198.
- Suslick K.S. (1989). The chemical effects of ultrasound, *scientific american February*. 260. 80–86.
- Suslick K.S. (1990). Sonochemistry, *Science* 247 (4949). 1439–1445.
- Suzanne J.P.L. van den Berg , Wasma Alhusainy , Patrizia Restani, Ivonne M.C.M. Rietjens. (2014). Chemical analysis of estragole in fennel based teas and associated safety assessment using the Margin of Exposure (MOE) approach. *Food and Chemical Toxicology* 65- 147–154.
- Švarc-Gajic´ J., StojanovicZ., Segura Carretero A., Arráez Román D., Borrás I. et Vasiljevic´ I.(2013).Development of a microwave-assisted extraction for the analysis of phenolic compounds from *Rosmarinus officinalis*. *Journal of Food Engineering*. 119, 525–532.
- thrombolyse ultrasonore. école doctorale mécanique, énergétique, génie civil & acoustique.18-30.
- Tognolini, M., Ballabeni, V., Bertoni, S., Bruni, R., Impicciatore, M., arocelli, E., (2007). Protective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil and anethole in an experimental model of thrombosis. *Pharmacol. Res.* 56, 254–260.
- Tripathi P, Tripathi R, Patel RK, Pancholi SS. (2013). Investigation of antimutagenic potential of *Foeniculum vulgare* essential oil on cyclophosphamide induced genotoxicity and oxidative stress in mice. *Drug Chem Toxicol*, 36:35-41.
- Vanrullen Isabelle Berta, Carine Saul et Carole Thomann. (2005). Sécurité et bénéfices des phyto-estrogènes apportés par l'alimentation – Recommandations.

- Veillet S. (2010). Enrichissement nutritionnel de l'huile d'olive Entre Tradition et Innovation. p 115.
- Vincenzo Lattanzio. (2013) Phenolic Compounds: Introduction in K.G. Ramawat, J.M. Merillon (eds.), Natural Products, DOI 10.1007/978-3-642-22144-6_57, Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Viot, M. (2009). "Soxhlet assisté par micro-ondes. Conception et application à l'extraction des matières grasses." Thèse de doctorat, Université d'Avignon et des Pays du Vaucluse.
- Wang L., Weller C.L. (2006). Recent advances in Extraction of nutraceuticals from plants. *Trends in Food Science & Technology*, 17: 300–312.
- Weninger K, Hiller R, Barber B. P, Lacoste D et Putterman S. J. (1995), *J. Phys.*
- Wright, C.I., Van-Buren, L., Kroner, C.I., Koning, M.M. (2007). Herbal medicines as diuretics: a review of the scientific evidence. *Journal of Ethnopharmacology* 114, 1–31.
- Wu TY, Guo N, Teh CY, Hay JXW. (2013). Theory and Fundamentals of Ultrasound. *Advances in Ultrasound Technology for Environmental Remediation: Springer*. p. 5.
- Xiao W., Han L., Shib B., (2008). Microwave-assisted extraction of flavonoids from Radix Astragali, *Sep. Purif. Technol.* 62, 614–618.
- Yang, Y. C., Wei, M. C., Huang, T. C., Lee, S. Z., & Lin, S. S. (2013). Comparison of modified ultrasound-assisted and traditional extraction methods for the extraction of baicalin and baicalein from Radix Scutellariae. *Industrial Crops and Products*, 45, 182–190.
- Yasuda K, Torii T, Yasui K, Iiad Y, Tuziuti T, Nakamura M, Asakura Y. (2007). *Ultrason. Sonochem.* 14, 699–704.
- Zhang B., Yang R., Liu C.Z., (2008). Microwave-assisted extraction of chlorogenic acid from flower buds of *Lonicera japonica* Thunb, *Sep. Purif. Technol.* 62 480–483.
- Zhang L., Xu L., Wang M., Y. M., Wu, D. M., et Chen, J. H. (2010). Optimizing ultrasonic ellagic acid extraction conditions from infructescence of *Platycarya strobilacea* using response surface methodology. *Molecules.* 15, 7923–7932.

Annexes

Annexes

Annexes I: Courbes d'étalonnage

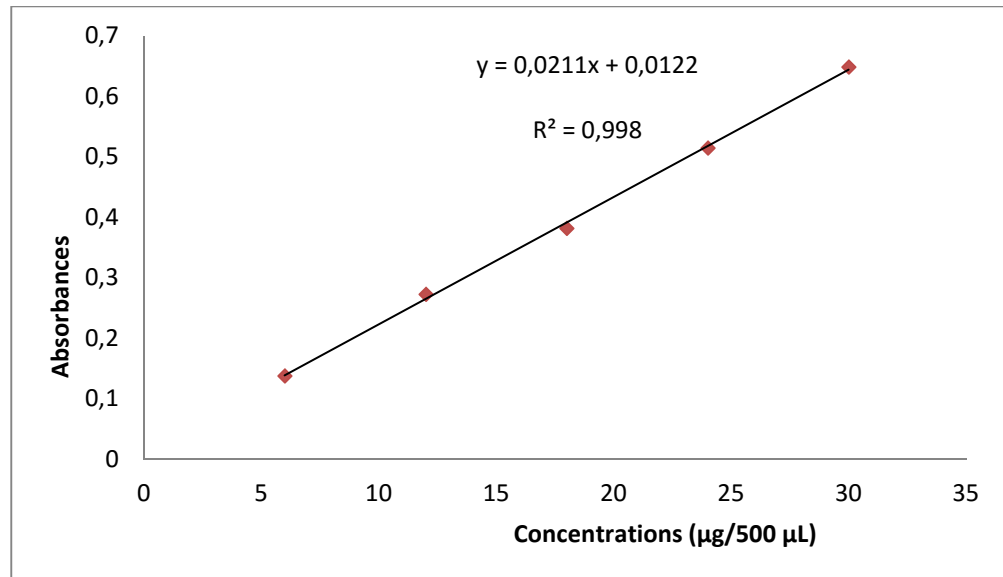


Figure 1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

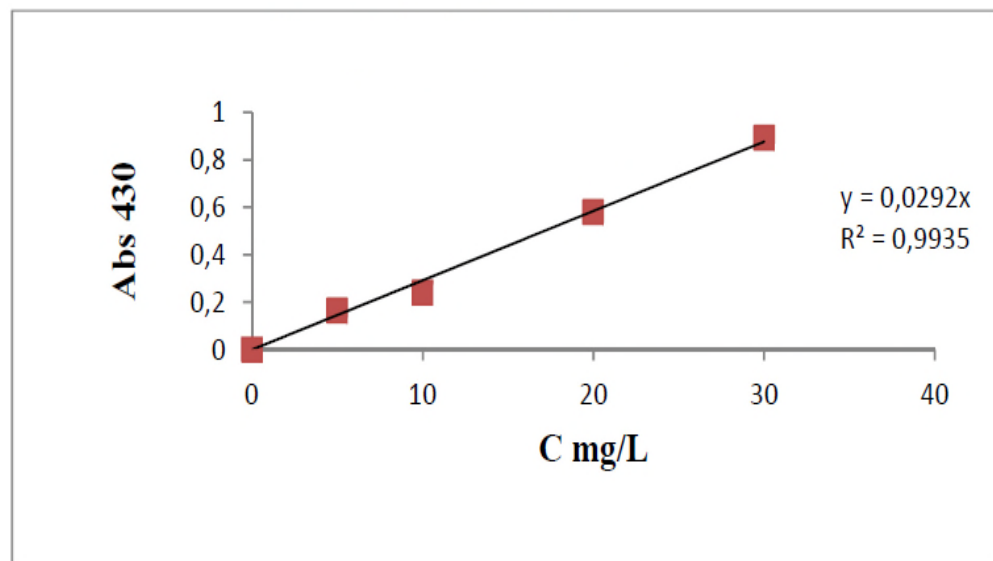


Figure 2: Courbe d'étalonnage de la rutine

Annexes II: historiques thermiques

Annexes II.1: historiques thermiques des essais obtenus dans l'étude préliminaire.

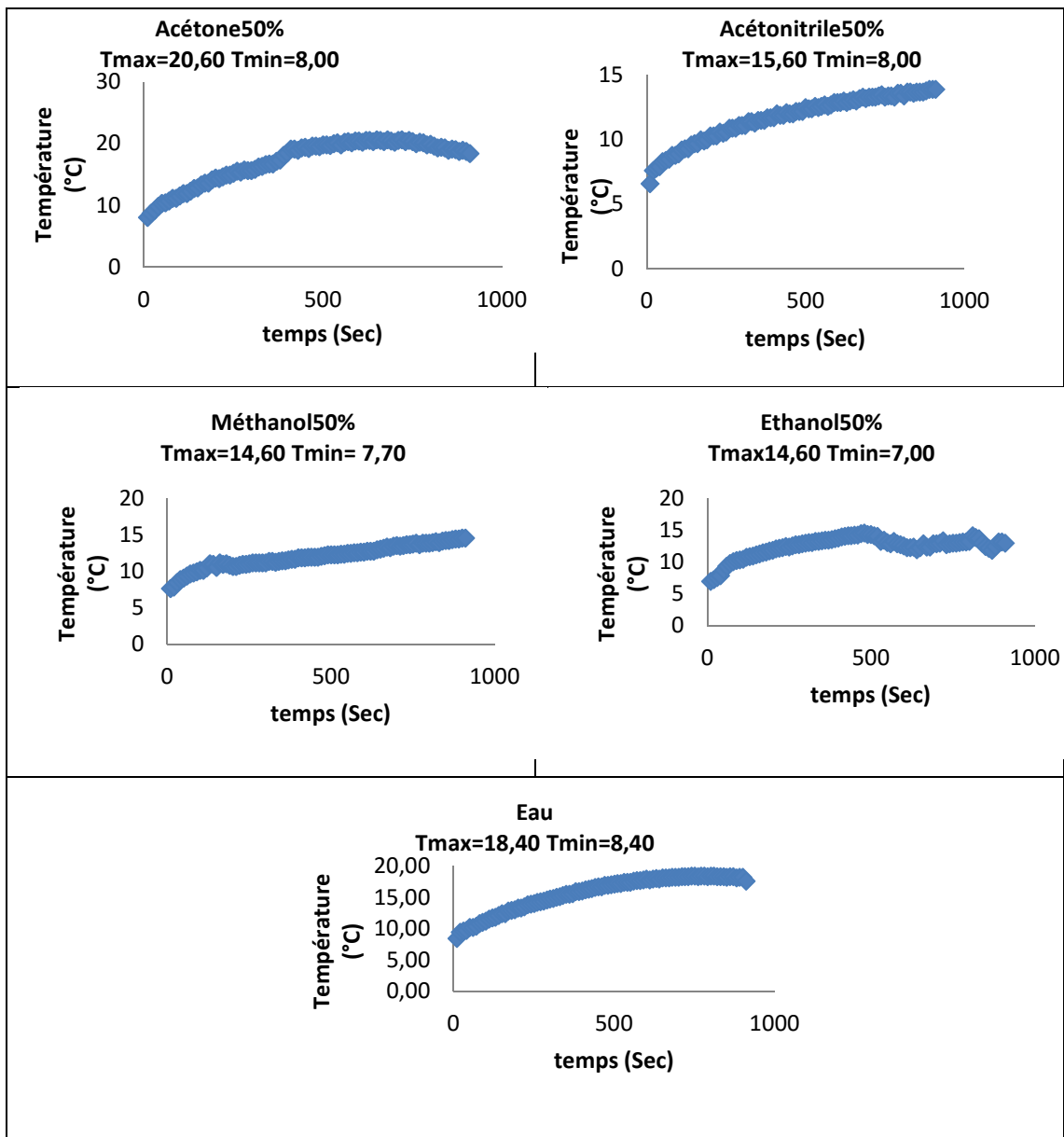


Figure 3: historique thermique en utilisant les différents solvants à 50%

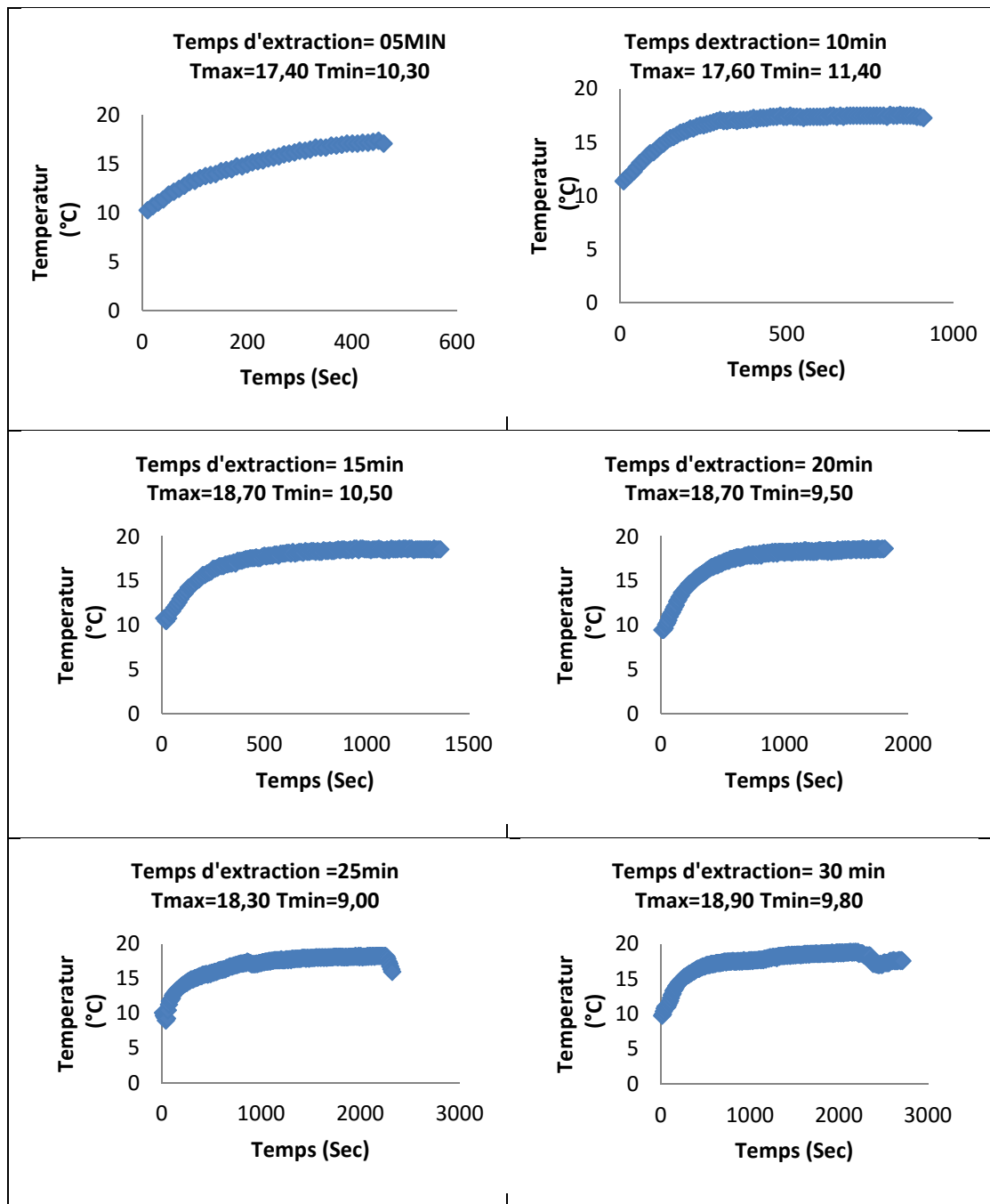


Figure 4: historique thermique pour l'effet du temps d'extraction

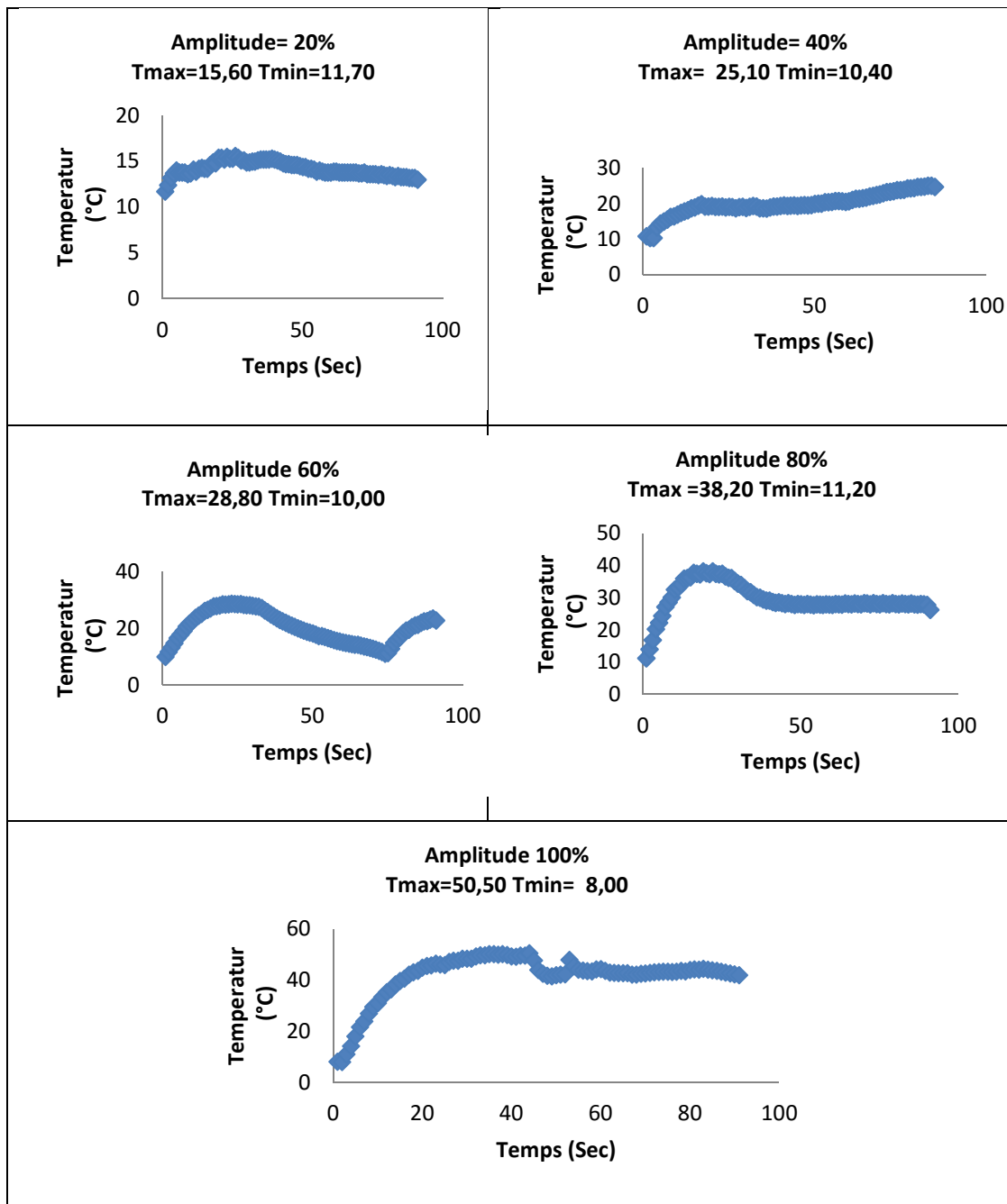


Figure 5: historique thermique des essais obtenus avec l'effet de l'amplitude sur l'extraction

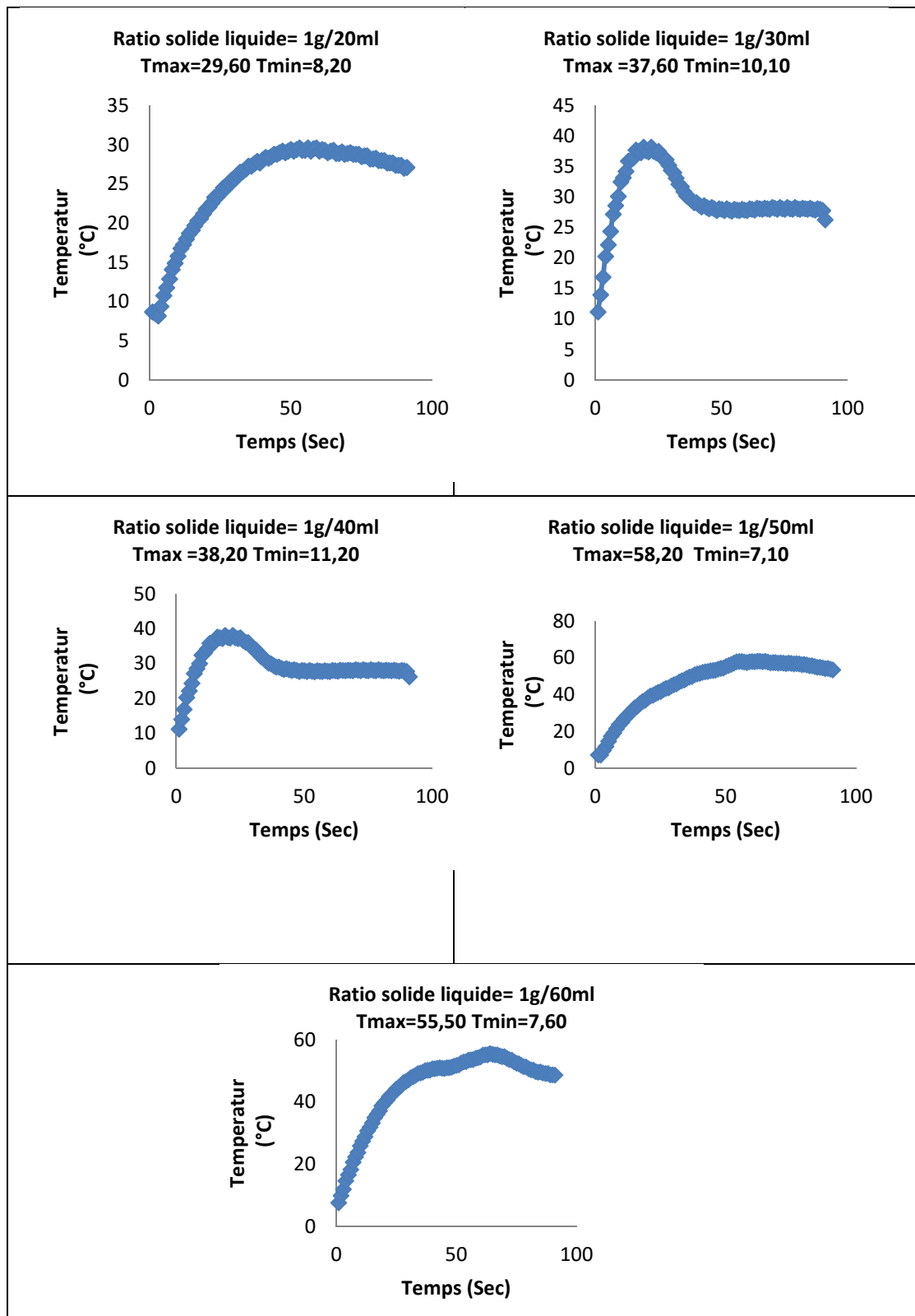


Figure 6: historique thermique des essais obtenus avec l'effet du ratio solide/ liquide.

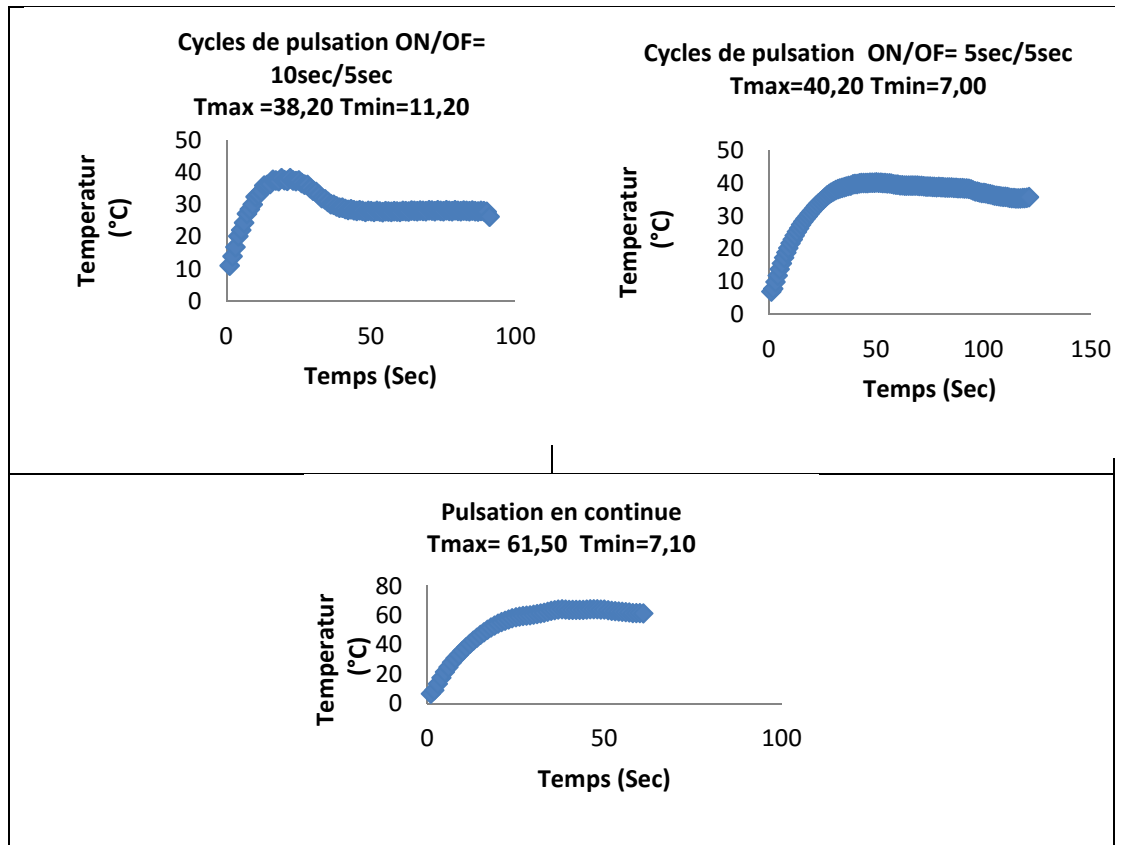


Figure 7: historique thermique des essais obtenus avec l'effet du mode de pulsation.

Annexe III : Matrice des corrélations.

Tableau 1 : Matrice de corrélation des résultats

	CPT	Flavonoïdes	Tanins	Chlorophylle (a)	Chlorophylle (b)	Caroténoïdes	DPPH	ABTS	Pouvoir réducteur
CPT	1	0,9665*	0,847*	0,978*	0,9086*	0,7787*	0,392	0,4844	0,931*
Flavonoïdes		1	0,760*	0,9569*	0,8601*	0,6886*	0,183	0,2837	0,8785*
Tanins			1	0,7758*	0,7011*	0,7131*	0,557	0,4713	0,7253*
Chlorophylle (a)				1	0,8696*	0,8486*	0,400	0,5262	0,964*
Chlorophylle (b)					1	0,6108	0,411	0,5254	0,8954*
Caroténoïdes						1	0,642	0,722*	0,8301*
DPPH							1	0,919*	0,5255
ABTS								1	0,6668
Pouvoir réducteur									1

(*) Corrélation significative ($p < 0,05$).

Résumé

Dans cette étude, deux méthodes d'extraction à savoir MAE et UAE ont été utilisées pour l'extraction des polyphénols totaux à partir des déchets de fenouil (feuilles de *Foeniculum vulgare*). Une application des plans d'expérience est envisagée à fin d'optimiser les conditions d'extraction. L'effet des variables indépendantes (pourcentage de l'éthanol, temps, puissance des micro-ondes, amplitude des ultrasons et ratio (solide/liquide)) sur trois réponses (la teneur en polyphénols totaux, flavonoïdes et l'activité antioxydante) a été évalué en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MSR). Les modèles polynomiaux de second ordre obtenus par MRS décrivent d'une manière satisfaisante les deux méthodes d'extraction. En utilisant les conditions optimales obtenues, ces deux méthodes ont été comparées à la méthode traditionnelle employant l'agitation magnétique, en matière des teneurs en CPT, flavonoïdes, tanins, caroténoïdes, chlorophylles *a* et *b* et en terme des activités anti-oxydantes ; par le pouvoir réducteur et par les tests d'inhibition du DPPH° et de l'ABTS^{o+}. Les résultats de l'étude comparative montrent que les méthodes innovantes (MAE et UAE) améliorent l'efficacité en réduisant ainsi le temps d'extraction.

Mots clés

Extraction assistée par ultra-sons, Extraction assistée par micro-ondes, Polyphénols, Optimisation, Modèle mathématique, Valorisation des déchets, Fenouil.

Abstract

In this study, two extraction methods namely MAE and UAE were used for extraction of total polyphenols from fennel waste (leaves of *Foeniculum vulgare*). An application of experimental design is envisaged in the aim to optimize the extraction conditions. The effect of the independent variables; percentage of ethanol, time, power of microwave, ultrasound and amplitude ratio (solid / liquid) in three responses; the total polyphenol content, flavonoids and antioxidant activity was evaluated using the response surface methodology (RSM). The second order polynomial models obtained by RSM describe satisfactorily the two extraction methods. Finally, extractions assisted by microwave and ultrasound using the optimal conditions were compared to the traditional method using the magnetic stirrer, in terms of CPT, flavonoids, carotenoids, tannins, chlorophyll *a* and *b* and in terms of antioxidant activity; by the reducing power and the DPPH° and ABTS^{o+} tests. The results of the comparative study show that innovative methods (MAE and UAE) improve efficiency by reducing the extraction time.

Keywords

Ultrasound Assisted extraction, microwave assisted extraction, Polyphenols, Optimization, Mathematical model, waste valuation, Fennel.

ملخص

في هذه الدراسة، تم استخدام طريقتين للأستخراج وهما MAE و UAE و هذا لأستخراج مادة البوليفينول من بقايا البسباس (أوراق *Foeniculum vulgare*). و هذا بتطبيق التصميم التجريبي لتحسين ظروف الأستخراج. و قد تمت دراسة تأثير المتغيرات المستقلة (نسبة الكحول، الوقت، قوة الميكروويف والموجات فوق الصوتية ونسبة السعة (الصلبة / السائلة)) على ثلاث إجابات. (محتوى البوليفينول الكلي (CPT) ، مركبات الفلافونويد ونشاط مضادات لأكسدة) و ذلك باستخدام منهجية استجابة السطح (RSM). نماذج كثيرات الحدود من الدرجة الثانية التي تم الحصول عليها تصف بصورة مرضية على حد سواء أساليب الأستخراج. باستخدام الظروف المثلى التي تم الحصول عليها، وتمت مقارنة هاتين الطريقتين مع الطريقة التقليدية باستخدام التحريك المغناطيسي) و ذلك من حيث CPT، الفلافونويد، الكاروتينات ، الكلوروفيل أ و ب وكذلك من حيث نشاط مضادات لأكسدة باستخدام قوة الأرجاع، DPPH° و ABTS^{o+}. نتائج الدراسة المقارنة تبين أن الأساليب المبتكرة (MAE و UAE) تحسّن الكفاءة من خلال تقليل وقت الأستخراج.

كلمات مفتاحية

أستخراج مساعد بالموجات فوق الصوتية ، أستخراج مساعد بالميكروويف ، البوليفينول ، التحسين ، نموذج رياضي ، تقييم بقايا البسباس.