

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Alimentaires
Spécialité Qualité des Produits et Sécurité Alimentaire



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Optimisation des conditions d'extraction des composés
phénoliques à partir de la partie aérienne du navet
(*Brassica rapa* L.) et élaboration des pâtes alimentaires**

Présenté par :

Bounab Cylia & Nacer Hassina

Soutenu le: **30 Juin 2019**

Devant le jury composé de :

M^{me} Guendouz N

MCB

Présidente

M^{lle} Brahmi F

MCA

Encadreur

M^{me} Medouni S

MCB

Examinatrice

Année universitaire : 2018/2019

REMERCIEMENT

Tout d'abord, nous exprimons nos remerciements au Bon Dieu de nous avoir donné le courage et la force pour terminer notre travail et pour sa bienveillance.

*Nous adressons nos remerciements les plus sincères à notre promotrice **Dr Brahmi** pour nous avoir permis de bénéficier de son grand savoir dans la matière, pour sa pédagogie, ses compétences, sa modestie et son aide précieuse tout au long de ce projet*

*Nous tenons également à remercier tous les membres de notre jury d'avoir acceptés d'évaluer notre travail. Nous remercions **Mme GUENDOUZ.N** d'avoir accepté de présider notre jury de soutenance.*

*Nous remercions également **Mme MEDOUNI.S** l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés d'examiner ce travail.*

Enfin, nos remerciements s'adressent à tous les enseignants et à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail:

À mes très chers parents, qui m'ont soutenu tout au long de ces années, avec leurs affections et leurs amours, et que dieu leurs offres une bonne santé et longue vie.

À ma grande -mère, ma source de tendresse que dieu te protège.

À la mémoire de mon grand-père que dieu l'accueil dans son vaste paradis.

À tous les membres de la famille: frères et sœurs, tantes et oncles, sans oublier mes neveux et nièces.

À mon fiancé et sa famille.

À tous mes enseignants Depuis Le primaire jusqu'au cycle universitaire.

À tous mes très chères ami(e)s et pour tous ceux qui m'aiment.

À Toute la PROMOTION QPSA 2019.

Cylia

Dédicace

Je dédie ce travail :

À mes chers parents pour leur amour, leur soutien et leur sacrifice, en témoignage de ma grande estime et mon amour pour eux.

À mes frères Mohammed et Redouan.

À mes sœurs Hadjira et Roumila et ses enfants Djibril, Zakaria et abdellah et surtout son mari Brahim.

À toutes mes amis kenza chahira et linda et toutes la famille Mahmoudi.

À mon futur mari Khemissi et sa famille.

À mon binôme Cylia avec qui j'ai partagé ce travail.

À tous les étudiants de la promotion 2019 QPSA.

À tous ceux qui nous ont aidés pour réaliser ce travail de près ou de loin.

Hassina.

Table de matière

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction1

Chapitre I : Synthèse bibliographique

1	Généralités sur le navet rose (<i>Brassica rapa</i>)	3
1.1	Description et caractéristiques	3
1.2	Classification botanique	4
1.3	Composition chimique et intérêt du navet	4
2	Généralités sur les composés phénoliques	6
2.1	Biosynthèse	6
2.2	Principales classes des composés phénoliques	7
2.3	Localisation des composés phénoliques	8
2.3.1	Répartition cellulaire.....	8
2.3.2	Répartition tissulaire	8
2.4	Propriétés biologiques des composés phénoliques	8
3	Extraction des composés phénoliques.....	10
3.1	Extraction par macération	10
3.2	Extraction assistée par ultrasons (UAE)	10
3.2.1	Principe d'extraction.....	10

Chapitre II : Matériel et méthodes

1	Matériels et réactifs	13
2	Matériel végétal.....	13
2.1	Récolte de l'échantillon	13
2.2	Test d'humidité	13
2.3	Préparation de l'échantillon	13
3	Méthodes d'extraction.....	14
3.1	Extraction par ultrasons (EAU)	14
3.2	Extraction par macération (EAM)	14
3.3	Calcul de rendement d'extraction	15
4	Modèle expérimental.....	15
4.1	Expériences à un facteur	15
4.2	Méthodologie de surface de réponse.....	15
5	Dosage des antioxydants	15
5.1	Dosage des polyphénols totaux.....	16
5.2	Dosage des flavonoïdes totaux.....	16
5.3	Evaluation de l'activité antioxydante.....	17
5.3.1	Test au DPPH.....	17
5.3.2	Test à l'ABTS	18
5.3.3	Pouvoir réducteur.....	19
6	Analyse statistique.....	19
7	Etude sensorielle	20
7.1	Echantillonnage.....	20
7.2	Analyse sensorielle.....	21
7.3	Analyse hédonique	21
7.4	Questionnaire	21
7.5	Préparation de la salle d'évaluation	21
7.6	Codage et présentation des échantillons	21
7.7	Traitement des résultats	22

Chapitre III : Résultats et discussion

1	Taux d'humidité	23
2	Optimisation et conditions d'extraction des antioxydants	23
2.1	Etude préliminaire	23
2.1.1	Effet de la concentration en éthanol	24
2.1.2	Effet du temps d'extraction	25
2.1.3	Effet de la température d'extraction.....	26
2.2	Optimisation par la méthodologie de surface de réponse.....	27
3	Effet des méthodes d'extraction sur le dosage des antioxydants.....	32
3.1	Dosage des polyphénols totaux.....	32
3.2	Dosage des flavonoïdes.....	33
4	Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante.....	34
4.1	Test au DPPH.....	34
4.2	Test à l'ABTS ^{•+}	35
4.3	Pouvoir réducteur	36
5	Résultats de l'analyse sensorielle.....	37
5.1	Caractérisation des produits	38
5.1.1	Pouvoir discriminant par descripteur.....	38
5.1.2	Coefficient des modèles.....	39
5.1.3	Moyennes ajustées par produit	40
5.2	Cartographie externe de préférence (PREFMAP)	41
	Conclusion et perspectives.....	42

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

ABTS: 2, 2' - azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique))

DPPH : 1,1-Diphényl-2-picrylhydrazyl.

EAG : Equivalent Acide Gallique.

EAM : Extraction par Macération

EAU : Extraction Assistée par Ultrasons

EQ : Equivalent Quercétine

IC₅₀: Concentration inhibitrice de 50%

R² : Coefficient de corrélation.

RSM : Méthodologie de Surface de Réponse.

TFC : Flavonoïdes Totaux.

TPC : Composés Phénoliques Totaux.

Liste des figures

Figure 1: Parties comestibles (racines et feuilles) et les fleurs du navet <i>Brassica rapa</i>	3
Figure 2: Structure d'un phénol	6
Figure 3: Représentation schématique de la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation	11
Figure 4: Evolution d'une bulle de cavitation à proximité d'une surface solide.....	11
Figure 5: Dispositifs utilisés pour l'extraction par les ultrasons : (a) bain à ultrasons (b) sonde ultrasonore combinée à un agitateur.....	12
Figure 6: Photographie (a) des feuilles du navet et (b) de la poudre du navet.....	14
Figure 7: Etapes de l'élaboration des pâtes alimentaire avec la poudre des feuilles de navet.	21
Figure 8: Représentation graphique des résultats de taux d'humidité de la partie aérienne de <i>Brassica rapa</i>	23
Figure 9: Influence de la concentration en éthanol sur le taux des polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du navet.....	24
Figure 10: Influence du temps d'extraction sur le temps des polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du navet.....	25
Figure 11: Influence de la température sur le taux des polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du navet.....	26
Figure 12: Grapgique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	29
Figure 13: Surface de réponse des interactions pour l'extraction aux ultrasons. (a) : température-solvant (b) : temps-solvant (c) : température-temps	31

Figure 14: Influence de la technique sur le rendement d'extraction de la partie aérienne de <i>Brassica rapa</i>	32
Figure 15: Influence des techniques d'extraction sur le taux de polyphénols totaux (TPC) de la partie aérienne du <i>Brassica rapa</i>	33
Figure 16: Influence des méthodes d'extraction sur le taux des flavonoïdes totaux des extraits de la partie aérienne du <i>Brassica rapa</i>	34
Figure 17: Influence des méthodes d'extraction sur le test au DPPH des extraits de la partie aérienne du <i>Brassica rapa</i>	35
Figure 18: Influence des techniques d'extraction sur l'activité anti-radicalaire ABTS ^{•+} des extraits de la partie aérienne du <i>Brassica rapa</i>	36
Figure 19: Influence des méthodes d'extractions sur le pouvoir réducteur des extraits des feuilles du <i>Brassica rapa</i>	37
Figure 20: Pouvoir discriminant par descripteur.	38
Figure 21: Coefficient des modèles des trois produits des pâtes alimentaires	39
Figure 22: Corrélations entre les variables et les facteurs.	42
Figure 23: Profil de classes créés.	43
Figure 24: Cartographie de préférence.	44

Liste des tableaux

Tableau I: Les principaux constituants chimique de navet.....	5
Tableau II: les principales classes des polyphénols dans la plante.....	7
Tableau III: propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme.....	9
Tableau IV: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite précis pour les extraits de la partie aérienne du navet obtenus par ultrasons.....	28
Tableau V : Analyse de la variance (ANOVA) des résultats expérimentaux obtenus par extraction.....	30
Tableau VI : Moyennes ajustées par produits.....	40

Depuis toujours les plantes sont une source habituelle de remèdes sous formes de préparations traditionnelles ou de principes actifs purs (**Benzidane, 2014**). Face aux limites thérapeutiques des médicaments chimiques, le développement de la recherche sur les plantes médicinales a été orienté vers l'obtention de phytomédicaments. Ce développement constitue une étape indispensable pour l'essor de tout un secteur lié aux besoins non seulement de la thérapie, mais aussi de l'industrie agroalimentaire, de la cosmétique et de la parfumerie (**Mohamedi, 2012**).

Les plantes sont capables de produire de nombreux métabolites secondaires parmi lesquels on distingue les terpénoïdes, les alcaloïdes et les composés phénoliques. Ces derniers sont trouvés communément dans les plantes comestibles et non comestibles, ils sont localisés dans différentes parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, pollens, grains et bois), ils ont des effets biologiques multiples, y compris l'activité antioxydante (**Marja et al., 1999**).

Le régime méditerranéen, caractérisé par une consommation élevée et variée de légumes et de fruits, est associé à un allongement de l'espérance de vie. De récentes études épidémiologiques suggèrent que la protection avec une alimentation riche en produits végétaux semble apporter contre le développement de diverses pathologies dégénératives associées au stress oxydant telles que les maladies cardio-vasculaires, les maladies neurodégénératives et divers cancers, serait due aux microconstituants des fruits et légumes dont les polyphénols sont les principaux représentants (**Nkhili, 2009**).

Dans le cadre de la recherche de nouvelles molécules bioactives extraites des végétaux, il nous a paru intéressant d'extraire les composés phénoliques à partir des feuilles de navet (*Brassica rapa* L.) qui est une plante très disponible et utilisée en Algérie. En effet, le navet c'est l'un des plus anciens légumes que nous consommons ; il a même commencé à être cultivé bien avant la pomme de terre (**Godefroy, 2011**). La France est le 3^{ème} producteur européen du navet après le Royaume-Uni et l'Italie avec 54984 tonnes (**Anonyme**).

La partie aérienne de *brassica rapa* est généralement jetée et considérée comme un déchet non exploité. Dans l'objectif d'une meilleure valorisation et afin d'apporter une valeur ajoutée à l'industrie agroalimentaire et aussi d'élaborer des produits alimentaires à base des ressources bio et naturels, le présent travail porte, en premier lieu, sur l'optimisation des

Conditions d'extraction des composés phénoliques à partir de la partie aérienne du navet. Cette partie va nous permettre de répondre ainsi à deux questions, d'une part, qu'elles sont les meilleures conditions pour extraire des taux importants en composés phénoliques des feuilles de *Brassica rapa*. D'autre part, qu'elle est la méthode la plus efficace pour l'extraction de ces composés ?

Dans la deuxième position, cette étude vise à valoriser la partie aérienne de *Brassica rapa* en l'incorporant comme colorant et antioxydant naturel dans des pâtes alimentaires. Afin de répondre à une problématique d'importance majeure: est-ce que les pâtes élaborées enrichies par les antioxydants naturels à partir de la poudre étudiée vont être appréciés par le dégustateur?

.Notre étude est devisée en deux parties:

- Une synthèse bibliographique dans laquelle nous allons donner quelques généralités sur *Brassica rapa*, les composés phénolique et les méthodes d'extraction.
- Une étude expérimentale incluant l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre de la partie aérienne de cette plante, en utilisant une technique d'extraction innovante (extraction assisté par ultrasons), la détermination de la teneur en composés phénoliques et l'évaluation de l'activité antioxydante de l'extrait obtenu dans des conditions optimums et leur comparaison à ceux de l'extrait obtenu par macération et d'effectuer des analyses sensoriels et hédoniques sur la pâte alimentaire élaborée.

1 Généralités sur le navet rose (*Brassica rapa*)

1.1 Description et caractéristiques

Brassica rapa (le navet) appartient à la famille des Crucifères (Brassicacées) aussi connue comme étant la famille de la moutarde. Le terme crucifère vient de la forme des fleurs dont les quatre pétales opposés se croisent pour former une croix. Les brassicacées comprennent 3400 espèces réparties sur toute l'étendue du globe mais plus abondant dans l'hémisphère nord. Le navet est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle cultivée pour ses racines comestibles et les feuilles (Couplan, 2011).

La racine charnue que nous consommons est très variable autant dans sa forme (sphérique, allongée, plate) que dans sa couleur (jaune pâle, blanche, bicolore rose-blanc) (Godefroy, 2011). La plante possède des tiges dressées avec 8-12 feuilles formant une couronne (Couplan, 2011). La tige est bien ramifiée, même si le degré de ramification dépend du biotype ou de la variété, ainsi que des conditions du milieu. Les ramifications naissent à l'aisselle des feuilles les plus hautes sur la tige, et chacune se termine par une inflorescence. Le navet possède un feuillage vert, des feuilles glabres ou légèrement hispides quand elles sont jeunes et des feuilles supérieures partiellement embarrassante. Les feuilles basilaires sont très légèrement dentées et pétiolées, alors que les feuilles supérieures sont sessiles, presque entières, oblongues lancéolées et souvent étranglées au-dessus de la base. Ses fleurs portes quatre pétales en croix d'une couleur jaune pâle, en grappes denses au sommet, sont ouvertes à l'égalité et au-dessus des bourgeons terminaux et s'ouvrent vers le haut à partir de la base du racème (Figure 1) (Anonyme, 1999).



Figure 1: Les parties comestibles (racines et feuilles) et les fleurs du navet *Brassica rapa*. (Torres, 2008).

1.2 Classification botanique

Brassica rapa est classée comme suit (**Mansfeld et al., 1986**):

- ❖ Règne : Plantae.
- ❖ Division : Magnoliophyta.
- ❖ Classe : Magnoliopsida.
- ❖ Ordre : Capparales.
- ❖ Famille : Brassicaceae
- ❖ Sous-famille : Brassicoideae.
- ❖ Genre : Brassica.
- ❖ Espèce : *Brassica rapa*
- ❖ Noms communs : navet, naveau, rave

1.3 Composition chimique et intérêt du navet

Le navet (*Brassica rapa*) constitue une source de nutriments et les feuilles sont beaucoup plus riches que les racines particulièrement en provitamines A, en vitamines C et en calcium (Tableau I). Les navets se font habituellement cuire, mais ils peuvent être mangés crus, râpés comme les carottes de préférence en les mélangeant avec d'autres légumes. Une portion de 80 gramme de navet contient 1 à 2 gramme de fibres et plus de 20% de vitamine C et il contient aussi des pigments antioxydants comme la lutéine et zéaxantine. Grâce à la présence de composés soufrés en assez grande quantité le navet consommé de manière régulière, pourrait participer à la prévention de certains cancers tels que ceux du poumon, des ovaires et des reins (**Godefroy, 2011**). Ces composants soufrés sont également favorables à la peau et utiles contre les infections hivernales (**Couplan, 2011**).

De plus, en médecine traditionnelle, *Brassica rapa* est utilisée pour traiter une variété de maladies comme :

-les maux de gorge en faisant bouillir le gros navet coupé en morceaux dans 0,5 litre d'eau et l'eau est utilisée ensuite en gargarisme.

-Engelure, accès de goutte et furoncle en faisant cuire au four un gros navet avec sa pelure, une fois cuit laissé le refroidir légèrement et le couper en deux. Les engelures sont frottées avec les moitiés, en les pressant légèrement pour exprimer le suc (**Nicolas, 1999**).

Tableau I: Les principaux constituants chimique de navet (Couplan, 2011).

Les organes	Les constituants chimiques
Les racines	-Eau (92g/100g) -Na (67mg/100g) -Calories (27kcal/100g) -K (191mg/100g) -Protides (1g/100g) -Mg (11mg/100g) -Lipides (0,1g/100g) -Vitamine A (0UI/100g) -Glucides (6,5g/100g) -Vitamine B1 (0,04mg/100g) -Ca (30mg/100g) -Vitamine B2 (0,03mg/100g) -P (27mg/100g) -Fe (0,3 mg/100g) -Vitamine C (21mg/100g)
Les feuilles	-Eau (91g/100g) -Na (40mg/100g) -Calories (27kcal/100g) -K (296mg/100g) -Protides (1,5g/100g) -Mg (31mg/100g) -Lipides (6g/100g) -Vitamine A (7600UI/100g) -Glucides (0,3g/100g) -Vitamine B1 (0,8mg/100g) -Ca(191mg/100g) -Vitamine B2 (0.1mg/100g) -P (42mg/100g) -Fe (1,1mg/100) -Vitamine C (60mg/100g)

2 Généralités sur les composés phénoliques

Les composés phénoliques représentent un groupe de métabolites secondaires exclusivement synthétisés dans le règne végétal. Ils sont localisés dans différentes parties des plantes (racines, tiges, feuilles, fleurs, fruits, pollens, grains et bois) (Nkhili, 2009). Au niveau du végétal les composés phénoliques sont un moyen de défense contre les rayonnements UV, les insectes nocifs, les variations de la température et les agressions par les pathogènes (moisissures et les bactéries phytopathogènes...etc.) (Muanda, 2010). Et ils contribuent à la pigmentation des plantes (Bouchouka, 2016).

Les composés phénoliques constituent une importante famille d'antioxydants dans les plantes, les fruits et les légumes et ils n'ont aucun effet nuisible sur la santé humaine. Ils sont également utilisés dans l'industrie agro-alimentaire comme additifs, colorants, arômes ou agents de conservation (Bruneton, 1999). Ils forment ainsi une immense famille de plus de 8000 composés naturels (Bouchouka, 2016). L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau aromatique à 6 atomes de carbone (figure 1) auquel est directement lié au moins d'un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Bruneton, 2009).

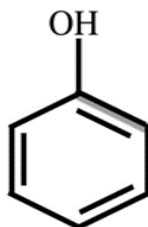


Figure 2: structure d'un phénol (Stauber *et al.*, 1999).

2.1 Biosynthèse

Du point de vue biosynthétique, les polyphénols peuvent être synthétisés par deux grandes voies métaboliques :

- La voie la plus courante est celle qui via le shikimate (l'acide shikimique),

Conduit des oses aux amino-acide aromatique (phénylalanine et tyrosine) puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs très nombreux dérivés : acides benzoïques, acétophénones, lignanes et lignines, coumarines, etc.

- L'autre voie part de l'acétate qui est à l'origine des composés polycycliques tels que les xanthones et les quinones (Bruneton, 2009).

2.2 Principales classes des composés phénoliques

Différentes classes de polyphénols peuvent être distinguées en se basant sur :

- Le nombre de carbone.
- La structure de base du phénol (Nkhili, 2009).

Tableau II: les principales classes des polyphénols dans la plante (Nkhili, 2009).

Nombre d'atome de carbone	Squelette de base	Classe
6	C6	Phénols simples, benzoquinones
7	C6-C1	Acides phénoliques
8	C6-C2	Acétophénone, acide phénylacétique
9	C6-C3	Acide hydroxycinnamique, polypropène, coumarine, isocoumarine
10	C6-C4	Naphtoquinone, polyphénols
13	C6-C1-C6	Xanthone
14	C6-C2-C6	Stilbène, anthraquinone
15	C6-C3-C6	Flavonoïdes, isoflavonoïdes
18	(C6-C3) 2	Lignanes, neolignanes
30	(C6-C3-C6) 2	Biflavonoïdes
n	(C6-C3) n	Lignines
	(C6) n	Catécholmélanines
	(C6-C3-C6) n	Tanins condensés

2.3 Localisation des composés phénoliques

2.3.1 Répartition cellulaire

La répartition des composés phénoliques à l'échelle cellulaire est très caractéristique. Ils s'accumulent principalement dans deux sites: d'une part la paroi cellulaire où sont présentes les lignines et quelquefois certains flavonoïdes, et d'autre part la vacuole où sont stockés les phénols solubles (anthocyanes, flavonols, tanins,...) (**Colin-Henrion, 2008**). Certains flavonoïdes (quercétine, kaempférol) pourraient également être présents au niveau du noyau et de la membrane plasmique, mais toujours à très faible concentration (**El Darra, 2013**).

2.3.2 Répartition tissulaire

A l'échelle tissulaire, des répartitions très inégales des différents composés phénoliques ont été notées. Ainsi les anthocyanes et les pigments de type flavonols sont généralement présents dans les couches cellulaires externes des organes végétaux en particulier les épidermes de fruits et des feuilles (**El Darra, 2013**).

2.4 Propriétés biologiques des composés phénoliques

Les recherches sur les polyphénols en générale et les flavonoïdes en particulier sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergiques, anti-inflammatoires, antimicrobiennes.... (**Benhammou, 2012**) (Tableau III).

Tableau III: propriétés biologiques de quelques polyphénols dans l'organisme.

Classe de polyphénols	Propriétés biologiques	Référence
Acides phénoliques	-antibactériennes -antiparasitaire -antifongiques -antioxydants	-Mohammedi, 2006 -Van der welf, 2013
Flavonoïdes	-chélatrice des ions métalliques -antibactériennes -antioxydants -anti-inflammatoires -antiparasitaires -antivirales -anti-tumorales -hypotenseurs	-Mohammedi, 2006 -Hadjadj, 2017 -Rezaire, 2012 -Zrargui, 2018 -Nkhili, 2009
Anthocyanes	-antioxydants -protectrice des capillaires et des veines	-Bruneton, 1999 -Rezaire, 2012
Coumarines	-anti-inflammatoires -antiparasitaires -protectrice vasculaires	-Muanda, 2010 -Zrargui, 2018
Tanins galliques et tanins catéchiqes	-antioxydants -antibactériennes	-Zeghad, 2009

3 Extraction des composés phénoliques

Plusieurs techniques d'extraction peuvent être mises en œuvre pour extraire les principes actifs dont les composés phénoliques des plantes, toujours très recherchés pour toutes sortes d'application en alimentaire, cosmétique et pharmacie,....

Une extraction est un procédé qui permet d'obtenir une espèce chimique à partir d'une substance naturelle qui la contient (**Selvamuthukumaran et Shi, 2017**).

Plusieurs méthodes d'extraction ont été utilisées pour extraire les composés phénoliques à partir de matrices végétales. Dans ce présent travail, nous avons opté à extraire les composés phénoliques des feuilles de navet en employant une technique innovante qui est l'extraction assistée par ultrasons (UAE). Afin de démontrer l'efficacité de cette technique, une comparaison avec une technique conventionnelle (macération) est réalisée. La description et les principes des deux méthodes sont ainsi donnés ci-dessous.

3.1 Extraction par macération

La macération est une méthode conventionnelle, qui consiste à faire tremper la plante dans un récipient fermé avec solvant à température ambiante avec agitation fréquente (**Azwanida, 2015**). Ceci peut présenter quelques inconvénients, en terme de fermentation ou de contamination bactériennes notamment si le solvant utilisé est l'eau. Ces phénomènes peuvent aussi entraîner une dégradation rapide des molécules actives (**Hamsi, 2013**). Après la période de macération le liquide est égoutté, le marc pressé et filtré, puis mis en flacon en verre (**Azwanida, 2015**).

3.2 Extraction assistée par ultrasons (UAE)

3.2.1 Principe d'extraction

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 20 KHz à 1 GHz, pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz (**Wang et Weller, 2006**). Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) (**El Darra, 2013**). Cette différence de pression va générer des mouvements moléculaires au sein du milieu, des bulles de cavitation vont se former. Ces bulles vont croître pendant les phases de raréfactions et diminuer pendant les phases de compression (figure 3) (**Michel, 2011**).

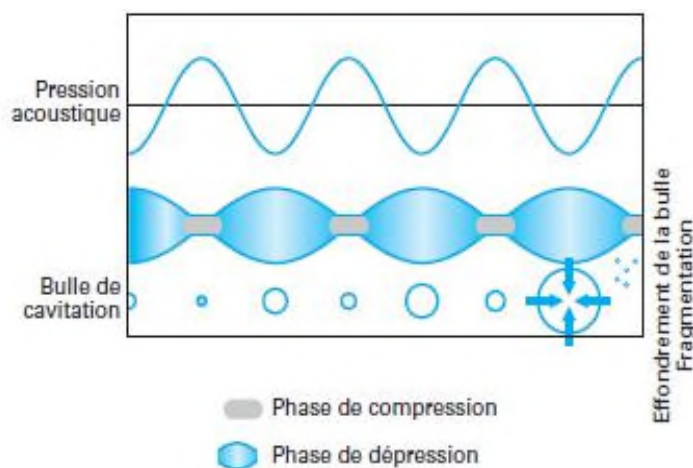


Figure 3: Représentation schématique de la croissance et de l'implosion d'une bulle de cavitation (Michel, 2011).

Lorsque ces bulles sont à proximité d'une surface solide, elles deviennent asymétrique (figure 3) et l'implosion qui en résulte des jets de liquides projetés à très grande vitesse vers la surface du solide. Ces jets de liquides vont percer les parois végétales et permettre ainsi la libération des molécules dans le milieu liquide (Wang et Weller, 2006).

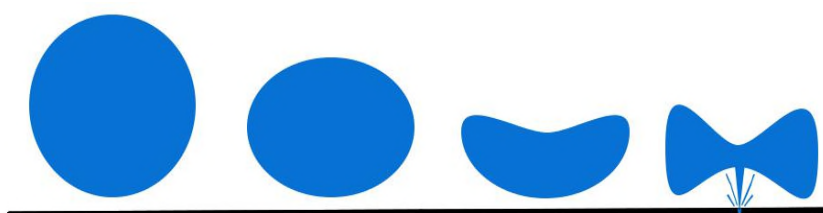


Figure 4: Evolution d'une bulle de cavitation à proximité d'une surface solide (Michel, 2011).

L'UAE est une technique simple, efficace et peu coûteuse, utilisable avec n'importe quel type de solvant et simple de mettre en place. En effet, l'extraction peut être réalisée de manière très simple en utilisant un bain à ultrasons (le plus utilisé) (figure 5a), ce qui par ailleurs permet d'effectuer plusieurs extractions simultanément ou via une sonde ultrasonore combinée à un agitateur (figure 5b). De plus, l'effet mécanique des ultrasons sur la matrice végétale induit (Michel, 2011) :

- Une meilleure pénétration du solvant dans les cellules.
- Améliore le transfert de masse.
- Augmente le rendement et la cinétique d'extraction.



(a)



(b)

Figure 5: Dispositifs utilisés pour l'extraction par les ultrasons : (a) bain à ultrasons (b) sonde ultrasonore combinée à un agitateur (Achat et *al.*, 2012).

Selon **Selvamuthukumaran et Shi.(2017)** l'UAE est une technique innovante qui possède plusieurs avantages :

- ✓ Une augmentation du rendement d'extraction.
- ✓ Réduction du temps d'extraction et l'utilisation de solvant.
- ✓ Le transfert d'énergie est plus rapide.
- ✓ Facile à mettre en œuvre.
- ✓ Eviter la thermodestruction des composés.

1 Matériels et réactifs(AnnexeI)

2 Matériel végétal

2.1 Récolte de l'échantillon

Notre étude a été réalisée sur la partie aérienne du navet rose (*Brassica rapa*), qui a été récoltée dans un jardin du village Hellil de la commun Oued-Ghir de la wilaya de Bejaia en mois du février 2019.

2.2 Test d'humidité

Une fois la récolte du matériel végétal est réalisée, la teneur en eau est déterminée en mettant à l'étuve à 105 °C trois échantillons de 10 g, pendant quatre heures.

Le taux d'humidité de l'échantillon est calculé selon la formule suivante :

$$H(\%) = [(P_{\text{avant}} - P_{\text{après}}) / P_{\text{avant}}] \times 100$$

Où :

H(%) : Taux d'humidité en pourcentage.

P_{avant} : Poids de l'échantillon avant séchage.

P_{après} : Poids de l'échantillon après séchage.

- La matière sèche (MS) est obtenue comme suite :

$$MS(\%) = 100 - H(\%)$$

2.3 Préparation de l'échantillon

L'échantillon est nettoyé avec l'eau pour éliminer les traces de poussière et coupées en petits morceaux qui ont été mis dans une étuve pour le séchage à 40 °C pendant quatre jours. Une fois séché, la matière végétale est broyée à l'aide d'un broyeur électrique de marque IKA, puis la poudre a subi un tamisage afin d'obtenir une granulométrie inférieure à 250µm. Les poudres ainsi obtenues sont par la suite conservées dans des sachets en papier à l'abri de la Lumière pour éviter la photo oxydation des substances actives contenues dans la poudre et seront utilisées par la suite pour la préparation des extraits bruts.



Figure 6: Photographie (a) des feuilles du navet et (b) de la poudre du navet.

3 Méthodes Extraction

La première étape dans la préparation des extraits végétaux est le broyage du matériel végétal, sous cette forme broyée la plante présentera une plus grande surface de contact avec les solvants extracteurs, ce qui permet ainsi d'améliorer le rendement d'extraction.

3.1 Extraction par ultrasons (EAU)

La poudre de feuille du navet (5 g) est mélangée à un volume de 100 mL d'éthanol 44,6% (la concentration a été choisie selon le modèle expérimentale) dans un tube. Ensuite, les tubes ont été immergés dans un bain d'eau de sonication, et irradiés à une puissance de 50 Hz à température de 25 °C pendant 41minute. Après l'extraction, les mélanges ont été filtrés et stockés à 4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

3.2 Extraction par macération (EAM)

La poudre de feuille de navet (5 g) a été pesée avec précision et mélangée à 100 mL d'éthanol (44,6%) dans un bécher. Ensuite, les béchers ont été laissé agiter sur une plaque agitatrice pendant un temps tel que défini par les conceptions expérimentales. Après l'extraction, les mélanges ont été filtrés et stockés à 4 °C jusqu'à utilisation ultérieure.

3.3 Calcul de rendement d'extraction

Le rendement d'extraction est calculé par la formule suivante :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = (\text{poids du bécher après extraction} - \text{poids du bécher vide}) / \text{poids de l'échantillon} * 100$$

4 Modèle expérimental

4.1 Expériences à un facteur

Des expériences à un facteur ont été menées pour évaluer les effets des trois paramètres expérimentaux sur l'efficacité de l'extraction. Il s'agit de la concentration en éthanol (20- 100%), le temps (10-50min) et la température (25-75°C).pour l'extraction innovante (aux ultrasons), Sur la base des résultats d'expériences à un seul facteur, trois facteurs qui ont exercé une influence majeure sur l'efficacité de l'extraction seraient sélectionnés dans la conception de la méthode de surface de réponse subséquente (**Wang et al., 2008**).

4.2 Méthodologie de surface de réponse

L'optimisation des conditions de l'extraction a été réalisée en utilisant le nouveau modèle d'extraction en variant un paramètre et en fixant les autres. La méthode adoptée est la RSM (méthode de surface sur réponse), un modèle mathématique a été développé, le type du modèle choisi est le plan central composite précis. Ce plan comprend 20 essais, dont l'essai centré (0, 0, 0) est répété deux fois afin de vérifier l'erreur type et la reproductibilité du procédé d'extraction.

5 Dosage des antioxydants

Afin de quantifier leur taux en polyphénols totaux et en flavonoïdes totaux. Les analyses quantitatives des composés phénoliques et flavonoïdes extraits sont déterminées à partir des équations de régression linéaires des courbes d'étalonnage et exprimées respectivement en mg équivalent acide gallique et quercétine par g de la matière végétal sèche (Annexe II).

5.1 Dosage des polyphénols totaux

Principe

Le réactif de Folin-Ciocalteu est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdine ($H_3PMO_{12}O_{40}$), de coloration jaune.

La présence de carbonate de sodium rend le milieu légèrement alcalin, le Folin-Ciocalteu réagit avec les composés phénoliques, cette réaction est basée sur l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleu de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (MO_8O_{23}).

La coloration bleu produite est proportionnelle à la teneur en phénols totaux contenus dans l'extrait, et possède une absorption maximum aux environ de 750-765 nm (**Boizot et Charpentier, 2006**).

Mode opératoire

L'estimation de la teneur en polyphénols totaux dans les deux extraits réalisée selon le protocole décrit par **Dorman et al. (2003)** qui se résume dans les étapes suivantes :

- Chaque extrait dilué (100 μ L), est mélangé à 6 mL de l'eau distillée.
- Ensuite, 500 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu sont ajoutés.
- La solution de mono-carbonate de sodium à 20% (1,5 mL) est après ajoutée.
- A la fin, le volume total est ajuster à 10 mL avec l'eau distillée et les Tubes à essai à ont été mélangés à l'aide d'un voltex et incubés à l'obscurité pendant deux heures à température ambiante.
- Après 2 heures d'incubation, les absorbances sont lues au spectrophotomètre à 760 nm.

5.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Principe

L'estimation de la quantité des flavonoïdes contenue dans les extraits des feuilles est réalisée par la méthode colorimétrique au chlorure d'aluminium basée sur la formation d'un complexe jaunâtre, acide et stable, entre le chlorure d'aluminium et le groupement cétonique C4 et le groupement hydroxyle (C3 ou C5) des flavones et flavonols (**Chang et al., 2002**). La coloration jaune produite est proportionnelle à la quantité de flavonoïdes contenue dans l'extrait.

Mode opératoire

La détermination de taux de flavonoïdes a été réalisée selon la méthode décrite par **Brahmi et al. (2015)** comme suit :

- La solution diluée des extraits (1mL) est additionnée d'un 1mL de la solution de chlorure d'aluminium à 2%
- Après avoir bien mélangé, les tubes ont été incubés à l'obscurité pendant 15 minutes.

Les absorbance sont mesurés au spectrophotomètre à 430 nm.

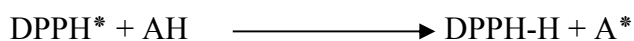
5.3 Evaluation de l'activité antioxydante

5.3.1 Test au DPPH

Principe

Le DPPH^{*} (2-2-Diphényle-1- picryl-hydrazyl), est un radical libre stable violet en solution, et présente une absorbance caractéristique à 517 nm. Cette couleur disparaît rapidement lorsque le DPPH^{*} est réduit en diphényle picryl-hydrazine par un composé à propriété anti-radicalaire, entraînant ainsi une décoloration. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (**Talbi et al., 2015**).

La réaction peut se résumer sous la forme de l'équation suivante :



Mode opératoire

Ce test est réalisé selon le protocole rapporté par **Brahmi et al. (2015)**, il est comme suit :

- La solution diluée des extraits (1mL) est additionné d'un 1mL d'éthanol (44.6%)
- Ajouté 0,15 mL de la solution DPPH préparée fraîchement dans l'éthanol pure.

L'absorbance est mesurée à 517nm après 60 minutes d'incubation.

Le pourcentage de réduction des radicaux DPPH[•] est exprimé selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = [\text{abs cont} - \text{abs écha} / \text{abs cont}] \times 100$$

Sachant que :

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

Abs cont : Absorbance du contrôle.

Abs écha : Absorbance de l'échantillon.

➤ Calcul des IC₅₀

L'IC₅₀ (concentration inhibitrice de 50%) est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH[•]. Les IC₅₀ sont calculées graphiquement par des pourcentages d'inhibition en fonction des différentes concentrations des extraits testés. Pour chaque extrait, une courbe de régression linéaire est établie afin de calculer l'IC₅₀ qui permettra la caractérisation du pouvoir antioxydant des extraits. Une faible valeur de l'IC₅₀ indique une forte activité antioxydante (Awa *et al.*, 2018).

5.3.1 Test à l'ABTS

Principe

Ce test est basé sur la capacité d'un antioxydant à stabiliser le radical cationique ABTS^{*+} (sel d'ammonium de l'acide 2, 2'- azino bis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)) de coloration bleu verdâtre. Ce radical cationique est formé suite à l'oxydation de l'ABTS initialement incolore avec les différents composés comme le phosphate de potassium (KH₂PO₄) et le 2,2'-azo-bis (2-amidino-propane) dihydrochloride (AAPH).

Ainsi, la réaction se déroule en deux étapes : au cours de la première étape le radical ABTS^{*+} est formé par arrachement d'un électron à un atome d'azote de l'ABTS. La deuxième se déroule en présence de vitamine C (ou d'antioxydant donneur de H^{*}), le radical d'azote concerné piège un H^{*}, conduisant à l'ABTSH⁺, ce qui entraîne la décoloration de la solution

(Re et al., 1999).

Mode opératoire

Ce test est réalisé selon le protocole décrit par (Re et al., 1999) :

- Un volume de 0.2 mL de chaque extrait dilué est additionné à 1,8 mL de la solution ABTS d'une absorbance de 0.700 nm.

L'absorbance est mesurée à 734 nm après 30minute d'incubation.

5.3.2 Pouvoir réducteur

principe

Le pouvoir réducteur détermine la capacité des antioxydants présents dans les extraits de plante à réduire le fer ferrique du complexe du ferricyanure F^{3+} en fer ferreux F^{2+} . Cette Réduction se traduit par une coloration verte dont l'intensité est proportionnelle au pouvoir réducteur. L'absorbance est lue à 700 nm (Zerargui, 2018).

Mode opératoire

Ce test est réalisé selon le protocole rapporté par Brahmi et al. (2015).

- Un volume de 0,2 mL de l'extrait a été mélangé avec 0,5 mL du tampon de phosphate à 0,2 M (pH=6,6) et 0,5 mL de ferricyanure de potassium $K_3Fe(CN)_6$ à 1%.
- Le mélange a été incubé à 50°C pendant 30 min.
- Après incubation, 0,5 mL de l'acide trichloracétique (TCA) à 10 % ont été ajoutés au mélange.
- Un volume de 0.5mL est prélevé du mélange, auquel 0.5mL d'eau distillée et 100 μ L de chlorure ferrique ($FeCl_3$) à 0,1% sont additionnés.

La lecture des absorbances se fait contre un blanc à 700 nm à l'aide d'un spectrophotomètre après 30minute d'incubation.

6 Analyse statistique

Une étude statistique des résultats obtenus est effectuée dans le but la mise en évidence des différences significatives entre les résultats de chaque échantillon à l'aide du logiciel STATISTICA 5.5 (comparaison post Hoc, test LSD). Pour l'analyse de la variance à un seul

Critère de classification (ANOVA/MANOVA), dont le degré de signification des données est pris à la probabilité de $P \leq 0,05$.

7 Etude sensorielle

7.1 Echantillonnage

Les figures suivantes résument les étapes essentielles de la préparation des pâtes alimentaires (Timketefet) préparées avec la poudre de la partie aérienne de navet pour la réalisation de l'analyse sensorielle.



Figure 7: Etapes de l'élaboration des pâtes alimentaire avec la poudre des feuilles de navet.

7.2 Analyse sensorielle

L'analyse sensorielle est effectuée par un panel qualifié de neuf personnes, formées et entraînées à l'évaluation sensorielle au sein de l'université Abderrahmane mira de Bejaia. Ce groupe de jury à effectuer une analyse sensorielle des trois échantillons des pâtes alimentaires (Trida) fabriquées par deux différentes concentrations de la poudre du navet.

7.3 Analyse hédonique

Pour effectuer une analyse hédonique, 103 sujets naïfs ont participé à la dégustation des trois échantillons des pâtes alimentaires (Timketefth), le jury qui a participé à ce test est constitué de personnes âgées de 20 à 35 ans.

7.4 Questionnaire

Deux questionnaires ont été préparés, un pour le test d'analyse sensorielle et un autre pour l'analyse hédonique.

- Pour l'analyse sensorielle : le choix des descripteurs pour la mise en place du questionnaire s'est porté sur la couleur, l'odeur, la saveur, l'arôme, la consistance, l'aspect lisse et l'aspect collant. Les experts sont invités à cocher leurs préférences à l'aide d'une croix par rapport aux descripteurs ci-dessus, puis donner une note de préférence aux trois échantillons sur une échelle de notation de 1 à 9 (Annexe III).
- Pour l'analyse hédonique : les descripteurs choisis sont les suivants : la couleur, l'odeur et le goût. Les dégustateurs sont invités à cocher leurs préférences aux trois échantillons sur une échelle de notation de 1 à 9 (Annexe IV).

7.5 Préparation de la salle d'évaluation

L'université de Bejaia dotée d'une salle de préparation des échantillons. Le laboratoire a été bien nettoyé et désodorisé pour éliminer toutes contraintes risquant d'influencer sur le bon déroulement de l'épreuve, onze postes de dégustation ont été mis à la disposition des dégustateurs.

7.6 Codage et présentation des échantillons

Les échantillons ont été numérotés (A, B, C), et présentés d'une façon identique dans une boîte d'aluminium qui porte une petite quantité de la pâte alimentaire (Timketefth) avec un gobelet d'eau pour rincer la bouche après chaque dégustation.

7.7 Traitement des résultats

Les analyses statistiques de nos résultats ont été réalisées à l'aide d'un logiciel nommé XLSTAT. Ce dernier utilise Microsoft Excel comme une interface de récupération des données et d'affichage des résultats. XLSTAT permet d'utiliser des techniques de statistique, d'analyse des données et de modélisation mathématiques sans quitter Microsoft Excel, donc sa particularité est qu'il est parfaitement intégré à l'Excel. Les principales fonctionnalités offertes par les outils de XLSTAT-MX qui se trouve dans XLSTAT version 2014 sont : plan d'expériences, Caractérisation de produits, Analyse de la composante principale (ACP).

1 Taux d'humidité

L'humidité et la matière sèche sont deux paramètres complémentaires importants pour connaître la teneur en eau. Elle consiste à déterminer la perte en eau par dessiccation à l'étuve, ce qui permettra d'uniformiser le taux d'humidité résiduelle et ainsi d'assurer un meilleur broyage et homogénéité.

La teneur en eau des échantillons étudiés est déterminée, en utilisant la méthode pondérale, les résultats sont représentés dans la figure suivante :

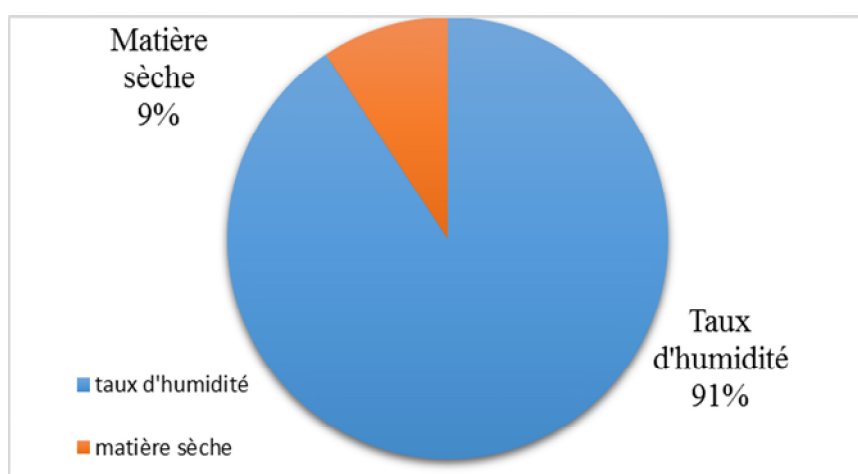


Figure 8: Représentation graphique des résultats de taux d'humidité de la partie aérienne de *Brassica rapa*.

La teneur en eau obtenue est de 91%, ce résultat montre la richesse hydrique de la partie aérienne de *Brassica rapa*. Ce paramètre a une grande importance pour l'extraction des polyphénols car sa présence est un élément gênant du rendement d'extraction.

2 Optimisation et conditions d'extraction des antioxydants

2.1 Etude préliminaire

Cette étape consiste à déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques contenus dans la partie aérienne du navet. Des séries d'extractions ont été réalisées pour déterminer l'impact de la concentration en éthanol, la température et le temps sur l'extraction des polyphénols totaux.

2.1.1 Effet de la concentration en éthanol

Lors de l'extraction des polyphénols d'une source végétale la solubilité des composés phénoliques dans l'extrait est notamment gouvernée par la polarité du solvant utilisé.

Dans notre travail, différentes concentrations en éthanol (20, 40, 60, 80, 100%, v/v) ont été testées sur l'efficacité de l'extraction. Les résultats de l'optimisation du solvant sont représentés dans la figure (9).

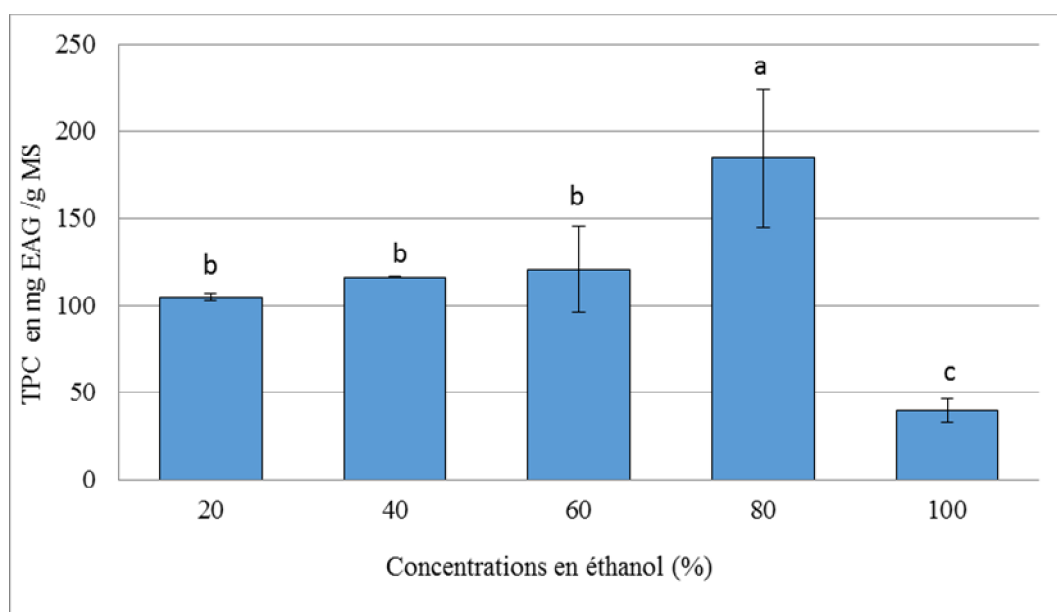


Figure 9: Influence de la concentration en éthanol sur le taux des polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du navet

La concentration en composés phénoliques totaux augmente avec l'augmentation de la concentration en éthanol de 20 jusqu'à 80 %, où elle atteint son maximum, puis diminue lorsque la concentration d'éthanol augmente de 80 à 100%. La teneur la plus élevée en polyphénols totaux a été trouvée pour l'éthanol 80% ($184,2 \pm 39,6$ mg EAG/g MS), alors que la teneur la plus faible ($39,5 \pm 6,4$ mg EAG/g MS) est enregistrée pour l'éthanol 100 %. Pour les extraits obtenus avec l'éthanol, 20, 40 et 60%, ils ont enregistré des valeurs moyennes sans différences significatives à $P \leq 0,05$ avec des valeurs respectivement de ($104,7 \pm 2,1$; $116,2 \pm 0,6$ et $120,6 \pm 24,6$ mg EAG/g MS). Selon **Wissam et al. (2012)**, le meilleur pourcentage d'éthanol pour l'extraction des composés phénoliques est de 80%, car ces composés sont polaires et sont généralement extraits avec des solvants polaires. **M'hiri (2015)** a effectué aussi une comparaison de la teneur en polyphénols totaux de l'extrait des écorces

d'orange obtenu en utilisant l'éthanol 70 et 80%, ils ont constatés que la teneur en polyphénols totaux la plus élevée est obtenue avec l'éthanol 80%.

En outre, les combinaisons de solvants tels que le méthanol, l'éthanol ou l'acétone avec l'eau font améliorer l'extraction des composés phénoliques. Les mélanges éthanol-eau sont, en particulier, plus efficaces pour l'extraction des composés phénoliques (**Khenfer et Medjouel., 2016**).

2.1.2 Effet du temps d'extraction

Le temps de contact entre le solide et le solvant est un paramètre important pour l'extraction des polyphénols (**Galvan D'Alessandro, 2013**), afin de minimiser le coût énergétique du procédé (**Chew et al., 2011**). L'effet de différents temps d'extraction (10, 20, 30, 40 et 50 min) sur l'extraction des polyphénols de la partie aérienne du navet, en utilisant les ultrasons, est illustré sur la figure (10).

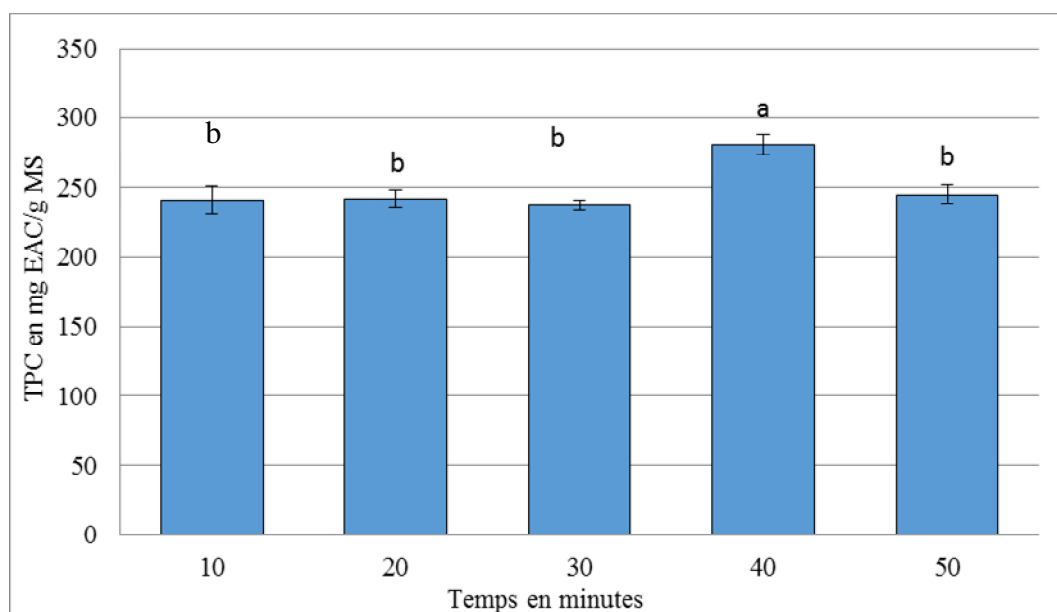


Figure 10: Influence du temps d'extraction sur le temps des polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du navet.(les lettre a,b,c signifie une différence significative)

La teneur maximale en polyphénols totaux (mettre la valeur $280,6 \pm 7,8$ mg EAG/g MS) a été obtenue à 40 min, tandis que les extraits obtenus après enregistrée 10, 20, 30 et 50 min ont donné des valeurs inférieurs sans différence significative à $P \leq 0,05$, qui sont de ($241,1 \pm 9,9$; $242 \pm 6,4$; $237,1 \pm 3,5$; $245,1 \pm 7,1$ mg EAG/g MS), respectivement. Les résultats concernant la durée d'extraction optimale des polyphénols sont assez contradictoires, certains

auteurs préconisent de courtes durées d'extraction de 5 à 30 min, alors que d'autres montrent la nécessité de plus longs temps de contact de 1 à 24 heures. Néanmoins, un temps trop long augmente les chances d'une oxydation des polyphénols, par conséquent une diminution rendement d'extraction et une dégradation de l'activité antioxydante des extraits (Paradal, 2016).

2.1.3 Effet de la température d'extraction

La température est aussi un paramètre très important à maîtriser dans le processus d'extraction. L'impact de la température sur l'extraction des composés phénoliques est évalué à 25, 35, 45, 55, 65 et 75 °C. La figure (11) montre les résultats obtenus.

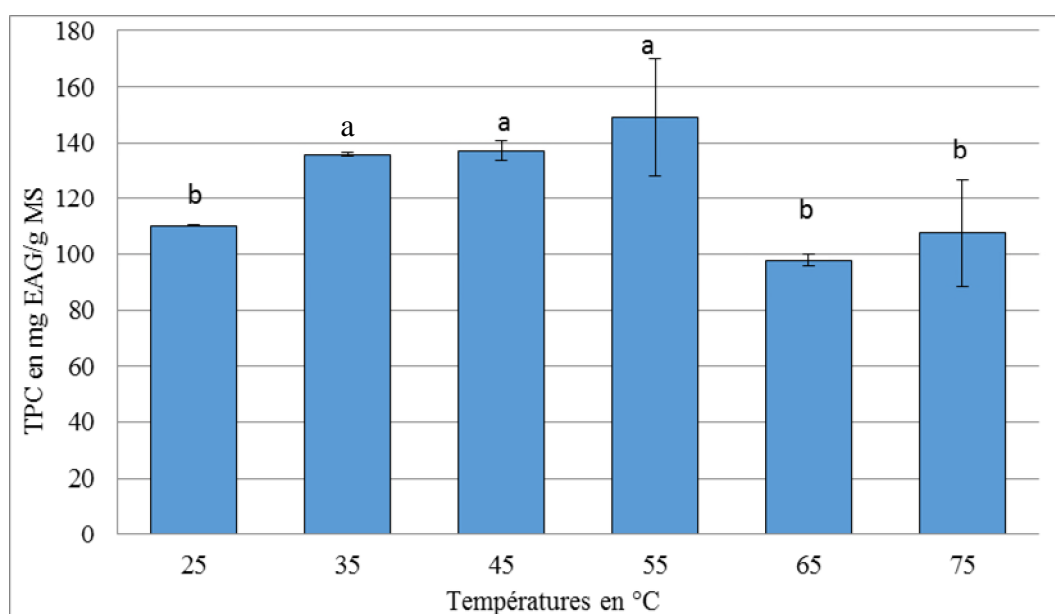


Figure 11: Influence de la température sur le taux des polyphénols totaux des extraits de la partie aérienne du navet. (les lettre a,b,c signifie une différence significative)

D'après les résultats obtenus, la meilleure teneur en polyphénols totaux est enregistrée à 55 °C (149,1 ± 21,2 mg EAG/g MS). Elle est suivie des teneurs obtenues avec un chauffage à 45 et 35 °C sans différences significatives à $P \leq 0,05$ avec des valeurs respectivement de 137,1±3,5 ; 135,8±0,7 mg EAG/g MS. Alors que les plus faibles teneurs sont enregistrées en chauffant à 25, 75 et 65°C dont les concentrations sont respectivement de 110,2±0,3 ; 107,6±19,1; 97,8±2,1 mg EAG/g MS. En général l'augmentation de la température favorise l'extraction car elle permet de réduire la viscosité du solvant, améliorant ainsi sa pénétration dans la matrice végétale, et d'augmenter la solubilité des composés

phénoliques (Galvan D'Alessandro, 2013), La chaleur facilite l'extraction aussi car elle augmente la perméabilité des parois cellulaires, cependant l'augmentation de la température n'a pas toujours un effet bénéfique, une température excessive peut provoquer une dénaturation des produits à extraire (Paradal, 2016). Elle peut également affecter la stabilité de certains composés phénoliques. Plusieurs auteurs ont constaté que la température est le paramètre le plus influant sur la modification des polyphénols, et ont montré une thermodestruction de certains anthocyanines à températures élevées allant de 45 à 100 °C (Galvan D'Alessandro, 2013),

2.2 Optimisation par la méthodologie de surface de réponse

Beaucoup de paramètres peuvent influencer l'efficacité de l'extraction des polyphénols, comme la méthode d'extraction, la nature et la concentration du solvant, la température d'extraction, le pH, et le temps d'extraction (Banik et Pandey, 2007 ; Silva et al., 2007 ; Pinelo et al., 2005).

Trois facteurs, qui sont la concentration en éthanol (X_1), la température (X_2) et le temps d'extraction (X_3), ont été utilisés afin d'optimiser l'extraction par ultrasons des polyphénols totaux à partir de la partie aérienne de *Brassica rapa*.

L'analyse de l'effet combiné de ces facteurs peut être réalisée à travers la méthodologie de surface de réponse (MSR), un outil mathématique et statistique qui est largement utilisé pour optimiser les conditions expérimentales d'un processus. Le plan choisi pour cette optimisation est le plan central composite (Chen et al., 2015).

Les résultats des expériences de ce plan sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau IV: Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite précis pour les extraits de la partie aérienne du navet obtenus par ultrasons.

Expériences	Configuration	[C] en éthanol (%, v/v)	T (°C)	Temps (min)	Polyphénols totaux (mg EAG/g de MS)	
		X ₁	X ₂	X ₃	Valeurs réelles	Valeurs prédites
1	00a	57,5	45	20	162,3	130,2
2	---	20	65	20	134,4	145,4
3	++-	95	65	20	48,4	35,3
4	+--	95	25	20	20,6	44,7
5	+++	95	25	50	109,4	92,2
6	0a0	57,5	25	35	195,4	171,6
7	000	57,5	45	35	226,8	164,7
8	a00	20	45	35	160,4	162,9
9	A00	95	45	35	55,6	78,02
10	000	57,5	45	35	169,4	164,7
11	---+	20	65	50	154,2	123,8
12	---	20	25	20	98,6	108,6
13	+++	95	65	50	34,2	17,9
14	000	57,5	45	35	156,8	164,7
15	00A	57,5	45	50	86,2	143,2
16	000	57,5	45	35	151,6	164,7
17	000	57,5	45	35	148	164,7
18	---+	20	25	50	145,2	152,02
19	000	57,5	45	35	185,6	164,7
20	0A0	57,5	65	35	104,1	152,8

Les résultats de la présente étude, montre que le taux d'extraction des composés phénoliques varie de 20,6 à 226,8 mg EAG/g MS. Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (Concentration en éthanol, temps, température) sur le taux des polyphénols extraits, ce qui est similaire au résultat retrouvé par plusieurs auteurs (**Chan et al., 2009 ; Shi et al., 2003**).

D'autres facteurs peuvent avoir un effet sur l'extraction des polyphénols tel que le ratio solide/liquide (Nagendra *et al.*, 2011) et le pH (Chirinos *et al.*, 2007).

➤ Validation du modèle

Dans les plans d'expériences le modèle mathématique relie la réponse aux facteurs qui l'influence, et afin d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiées.

✓ Coefficient de corrélation (R^2)

Le coefficient de corrélation R^2 exprime l'efficacité d'ajustement globale. Dans la présente étude, la valeur de (R^2) est égal à 0,75 (Figure 12) ce qui signifie que 25% des variations ne sont pas expliquées par le modèle : cela pourrait s'expliquer par des erreurs de manipulation ou par la pureté des produits utilisés.

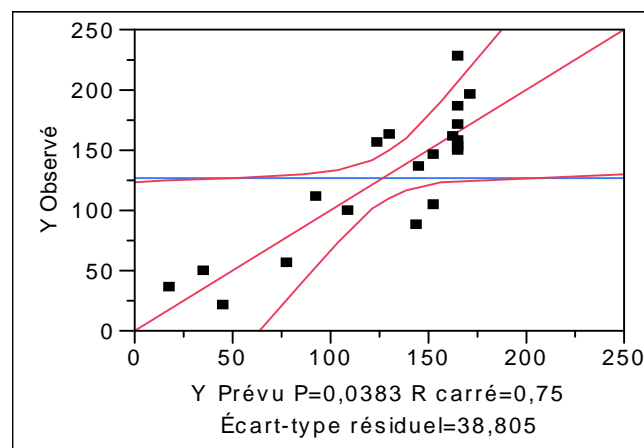


Figure 12: Graphe des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

En outre, l'analyse de la variance de la régression montre que le modèle est très significatif, $P = 0,0383 < 0,05$, ce qui confirme que le modèle est satisfaisant.

✓ Effet des facteurs (coefficients)

L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à analyser l'effet des variables (X_1 , X_2 et X_3) sur l'extraction des composés phénoliques. Les valeurs P sont utilisées comme un moyen pour vérifier la signification de chaque coefficient, ce qui indique aussi l'intensité d'interaction de chaque paramètre. Les valeurs les plus petites de P montrent la plus grande signification du facteur correspondant (Liu *et al.*, 2010). Les résultats obtenus montrent que seul le coefficient linéaire (X_1) a un effet significatif avec une P -value

faible ($P < 0,05$). Tandis que, les autres coefficients linéaires (X_2 et X_3), les coefficients quadratiques (X_1^2 , X_2^2 et X_3^2) et les coefficients d'interaction ($X_1 * X_2$, $X_1 * X_3$, $X_2 * X_3$) ont été jugés insignifiants ($P > 0,05$) (Tableau V).

Tableau V : Analyse de la variance (ANOVA) des résultats expérimentaux obtenus par extraction.

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Rapport F	Valeur-P
Modèle	9	44745,347	4971,71	3,3017
X_1 -Ethanol concentration	1	18028,516	11,9726	0,0061*
X_2 - Température	1	881,721	0,5855	0,4618
X_3 - Extraction time	1	421,201	0,2797	0,6084
$X_1 * X_2$	1	1062,605	0,7057	0,4205
$X_1 * X_3$	1	8,405	0,0056	0,9419
$X_2 * X_3$	1	2106,005	1,3986	0,2643
X_1^2	1	5381,354	3,5737	0,0880
X_2^2	1	17,001	0,0113	0,9175
X_3^2	1	2153,901	1,4304	0,2593
Résidus	10	15058,161	1505,82	
Erreur pure	5	4411,553	882,31	0,1779
Erreur total	19	59803,508		0,0383

✓ Effet des interactions

La présente étude montre que les interactions ; température – solvant, temps-solvant et Température – temps, sont non significatives sur l'extraction des polyphénols à partir de la partie aérienne de *Brassica rapa* avec des probabilités supérieures à 0,05.

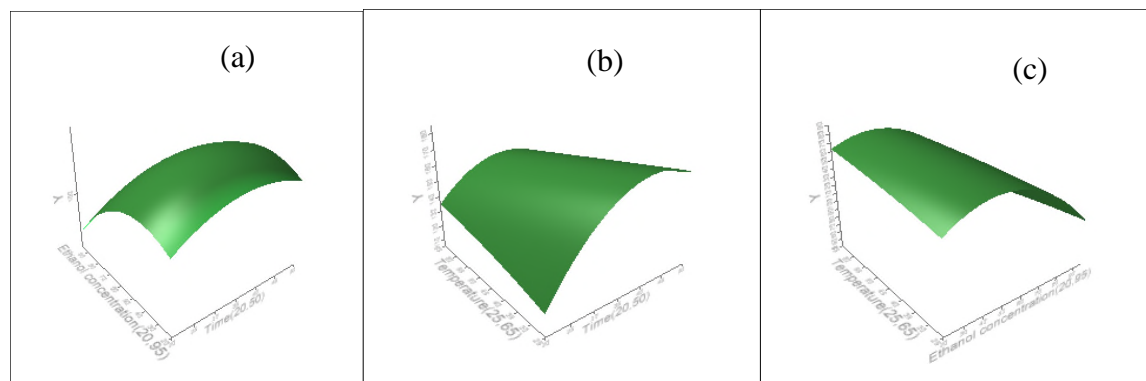


Figure 13: Surface de réponse des interactions pour l'extraction aux ultrasons. (a) : température-solvant (b) : temps-solvant (c) : température-temps

✓ Modèle mathématique

Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan central composite pour trois facteurs, qui est volontairement simplifié par élimination des effets d'interactions jugés non significatifs dans l'analyse, ce qui permet de manipuler plus facilement cette expression réduite tout en gardant une qualité d'ajustement quasiment similaire (Tinsson, 2010) est représenté par l'équation suivante :

$$Y = 164,71 - 42,46X_1$$

Cette équation montre que la teneur en TPC est affectée uniquement par un seul facteur qui est la concentration en éthanol.

La teneur en TPC de $(181,2423 \pm 58,88)$ est obtenue à une concentration d'éthanol de 44,6%, une température d'extraction de 25°C et un temps d'extraction de 41 minutes.

❖ Rendement d'extraction

Après optimisation des conditions d'extraction des polyphénols (éthanol à 44,6%, température de 25°C et temps de 25minutes) à partir de la poudre de la partie aérienne du navet par la méthodologie de surface de réponse (MSR), l'extraction est effectuée par deux techniques différentes : conventionnelle (macération) et innovante (ultrasons). Une comparaison est effectuée afin de choisir la meilleure procédure d'extraction de ces composés par rapport à la vitesse et au taux d'extraction. Les résultats de taux d'extraction sont représentés dans la figure (14) qui nous montre que la méthode innovante donne un meilleur rendement d'extraction. Ce qui nous amène à dire que la technique innovante (ultrasons) est

plus efficace en tenant en compte de temps d'extraction. Cela peut être justifié par la cavitation induite par les ultrasons de faible fréquence dans les milieux liquides qui se traduit entre autre par des accélérations de cinétique et amélioration de rendement (Achat, 2013).

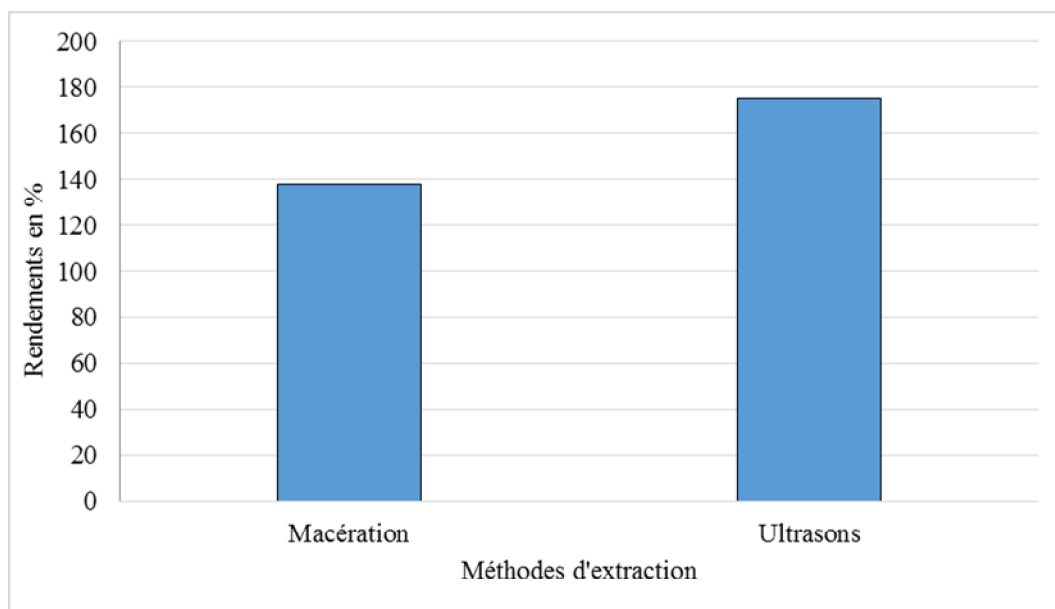


Figure 14: Influence de la technique sur le rendement d'extraction de la partie aérienne de *Brassica rapa*.

3 Effet des méthodes d'extraction sur le dosage des antioxydants

3.1 Dosage des polyphénols totaux

D'après les résultats obtenus (Figure 15), l'utilisation d'ultrasons a enregistré la meilleure concentration avec une différence significative à $P \leq 0,05$ ($265,66 \pm 4,72$ mg EAG/g MS) comparativement à la méthode conventionnelle en adoptant les conditions optimums d'ultrasons dont une teneur inférieure est trouvée (195 ± 1 mg EAG/g MS). Selon (Achat, 2013) et (M'hiri, 2015), l'utilisation des ultrasons permet une augmentation de la teneur en polyphénols totaux.

Ces résultats se traduisent par la perturbation de la paroi cellulaire induite par ultrasons qui conduit à la rupture des cellules avec l'augmentation ultérieure de pénétration du solvant et libération du contenu cellulaire (Medina-Torres et al., 2017).

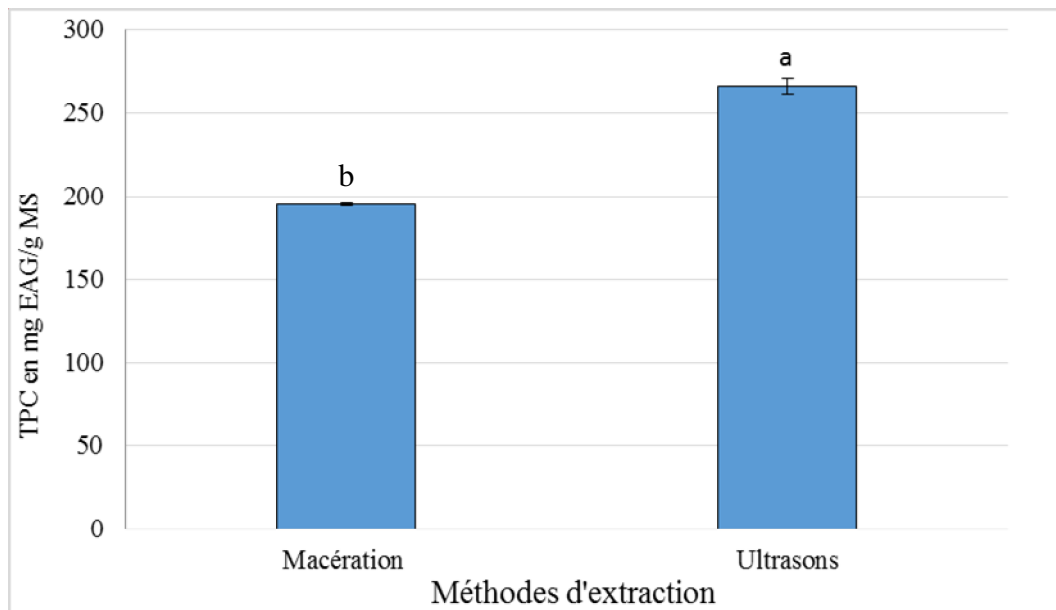


Figure 15: Influence des techniques d'extraction sur le taux de polyphénols totaux (TPC) de la partie aérienne du *Brassica rapa*. (les lettre a,b signifie une différence significative)

3.2 Dosage des flavonoïdes

D'après les résultats obtenus (Figure 16), nous remarquons que la meilleure concentration a été enregistrée par l'utilisation d'ultrasons avec une différence significative à $P \leq 0,05$ qui est de $135,7 \pm 9,8$ mg EQ/g MS. Par contre, l'utilisation de la méthode conventionnelle dans les conditions d'ultrasons a donné une valeur inférieure qui est de $(98,6 \pm 11$ mg EQ/g de MS).

Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par (Medina-Torres et al., 2017) qui ont révélé que les flavonoïdes totaux sont extraits d'une manière plus efficace avec un taux plus élevé par ultrasons que par macération.

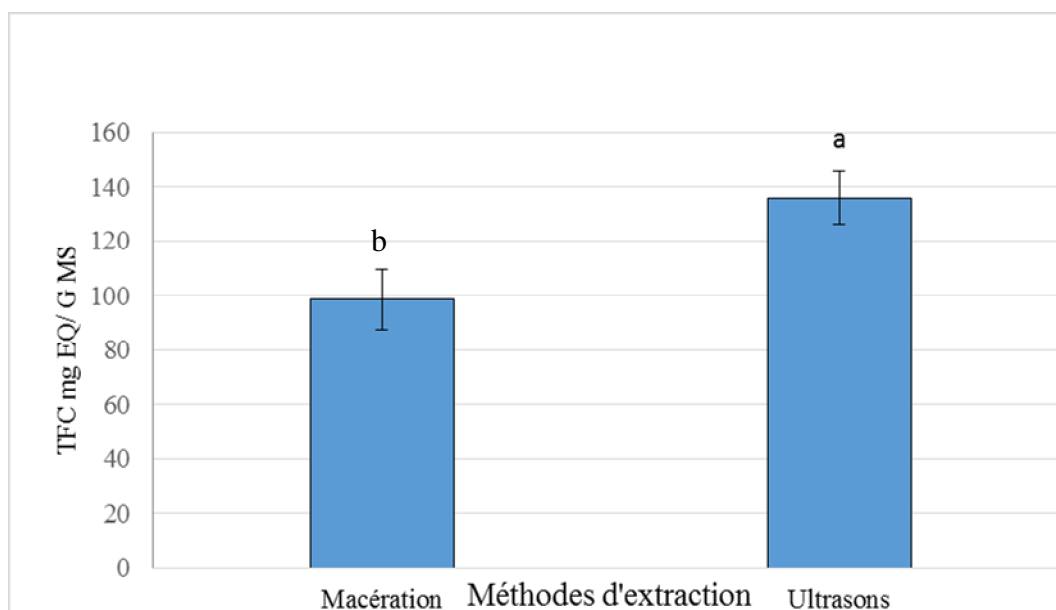


Figure 16: Influence des méthodes d'extraction sur le taux des flavonoïdes totaux des extraits de la partie aérienne du *Brassica rapa*. (les lettre a,b signifie une différence significative)

4 Effet des méthodes d'extraction sur l'activité antioxydante

4.1 Test au DPPH

L'activité antioxydante des extraits est exprimée en IC_{50} , ce paramètre a été employé par plusieurs groupes de chercheurs pour présenter leurs résultats, il définit la concentration efficace du substrat qui cause la perte de 50% de l'activité du radical DPPH \cdot . Ces IC_{50} sont déterminées à partir des courbes de régression linéaire, plus la valeur de l' IC_{50} est petite plus l'extrait est considéré comme un antioxydant puissant.

Le DPPH \cdot est un radical libre stable de couleur violette en solution, cette couleur disparaît rapidement lorsque celui-ci est réduit en diphényldicryl hydrazine par un composé à propriété anti radicalaire entraînant ainsi une coloration jaune claire DPPH-H. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des proton (**Haddoudi et al., 2014**).

D'après les résultats obtenus dans la présente étude, nous remarquons que l'extrait de la partie aérienne de *Brassica rapa* obtenu par ultrasons possède une faible valeur d' IC_{50} ($102,24 \pm 5,54 \mu\text{g/mL}$) ce qui traduit par une forte activité antioxydante par rapport à l'extrait

Obtenu par macération ($IC_{50} = 173,37 \pm 1,97 \mu\text{g/mL}$) qui a une faible activité scavenger du radical DPPH \bullet avec une différence significative à $P \leq 0,05$.

En accord avec nos résultats, (Altemimi et al., 2016) et (Medina et al., 2017) ont révélé que les extraits obtenus par ultrasons sont plus efficace à piéger le radical DPPH \bullet comparativement à ceux obtenus avec macération.

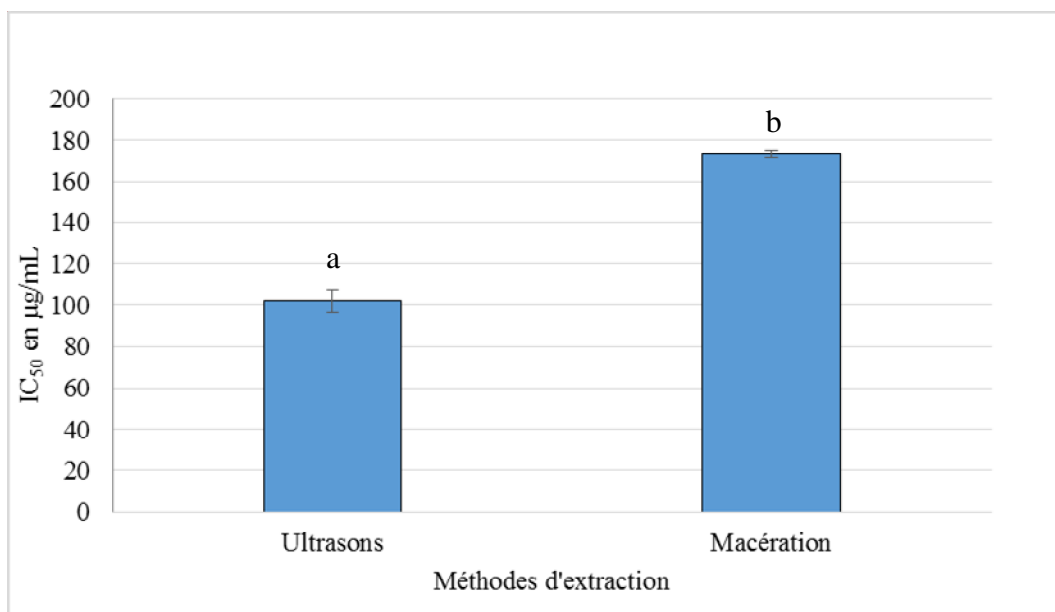


Figure 17: Influence des méthodes d'extraction sur le test au DPPH des extraits de la partie aérienne du *Brassica rapa*. (les lettre a,b signifie une différence significative)

4.2 Test à l'ABTS \bullet^+

L'ABTS [2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acide)] est utilisé comme un radical libre pour évaluer l'activité antioxydante des échantillons. Le contact de l'ABTS avec une enzyme de peroxydation (peroxydase metmyoglobine) en présence d'un oxydant comme le persulfate de potassium conduit à l'obtention du radical ABTS \bullet^+ (Re et al., 1999). En outre, le contact de ce dernier avec un donneur de H \bullet conduit à l'obtention de l'ABTS \bullet^+ et à la décoloration de la solution à 734 nm (Lien et al., 1999).

Les concentrations qui permettent l'inhibition de 50% du radical cationique ABTS \bullet^+ par les extraits obtenus par deux techniques différentes, de la partie aérienne de *Brassica rapa* sont illustrées dans la figure (18).

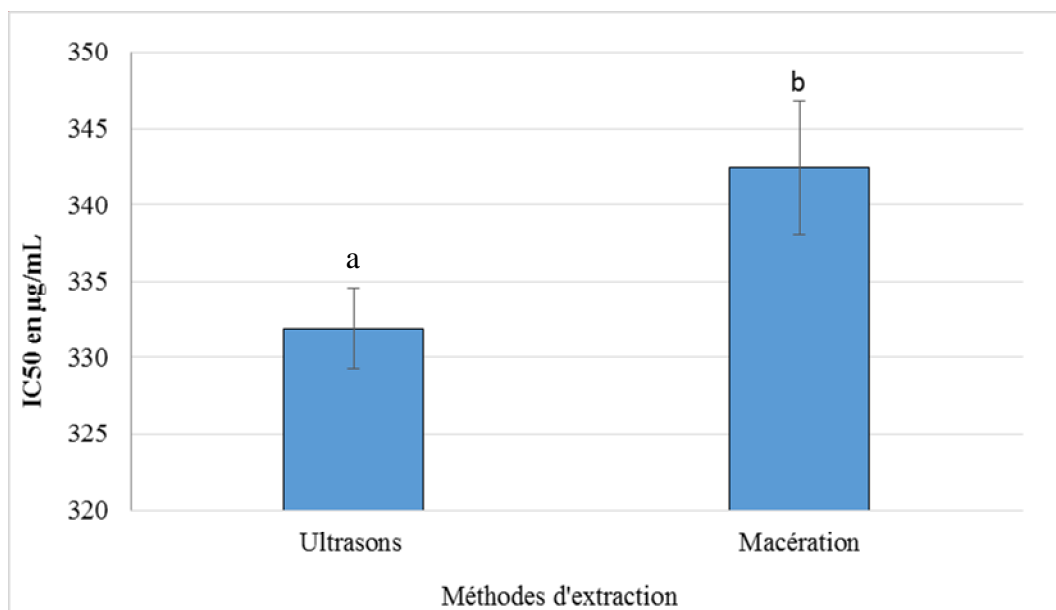


Figure 18: Influence des techniques d'extraction sur l'activité anti-radicalaire ABTS^{•+} des extraits de la partie aérienne du *Brassica rapa*. (les lettre a,b signifie une différence significative)

Le contenu en composés bioactifs extrait à partir des feuilles de *Brassica rapa* par deux techniques d'extraction différentes présente une capacité à piéger le radical ABTS^{•+} assez élevée.

Les deux méthodes d'extraction ultrasons et macération affichent des valeurs d'IC₅₀ de 331,89±2,65 et 342,44±4,37µg/mL, respectivement. La valeur d'inhibition de 50% de radical libre la plus faible est notée pour l'extrait obtenu par ultrasons ce qui nous amène à dire que la technique ultrason est plus efficace en tenant compte du temps d'extraction.

En se référant aux travaux faits par **Dubie et al. (2013)**, les extraits obtenus par ultrasons sont plus efficaces à inhiber le radical ABTS^{•+} comparé à ceux obtenus par macération.

4.3 Pouvoir réducteur

Le potentiel antioxydant de l'extrait obtenu à partir de la partie aérienne de *Brassica rapa* est estimé en utilisant la méthode de ferrocyanure de potassium. La présence des

composés réducteurs (antioxydants) dans les deux extraits cause la réduction du fer ferrique (Fe^{3+}) ferrocyanure de potassium pour donner de fer ferreux (Fe^{2+}) (Chung et al., 2006).

Les résultats de l'évaluation de pouvoir réducteur de l'extrait étudié sont représentés dans la figure (19).

D'après les résultats obtenus, nous constatons que l'extrait obtenu par ultrasons est plus riche en antioxydants donc il possède un grand pouvoir réducteur avec une valeur d'IC50 égale à ($1263.75 \pm 2.25 \mu\text{g/mL}$) par rapport à l'extrait obtenu par macération qui possède un faible pouvoir réducteur avec une valeur d'IC50 égale à ($1369 \pm 10,75 \mu\text{g/mL}$). Ces résultats se traduisent par la richesse de l'extrait obtenu par ultrasons en composés donneurs d'électrons entraînant la réduction de fer ferrique en fer ferreux (Awa et al., 2018).

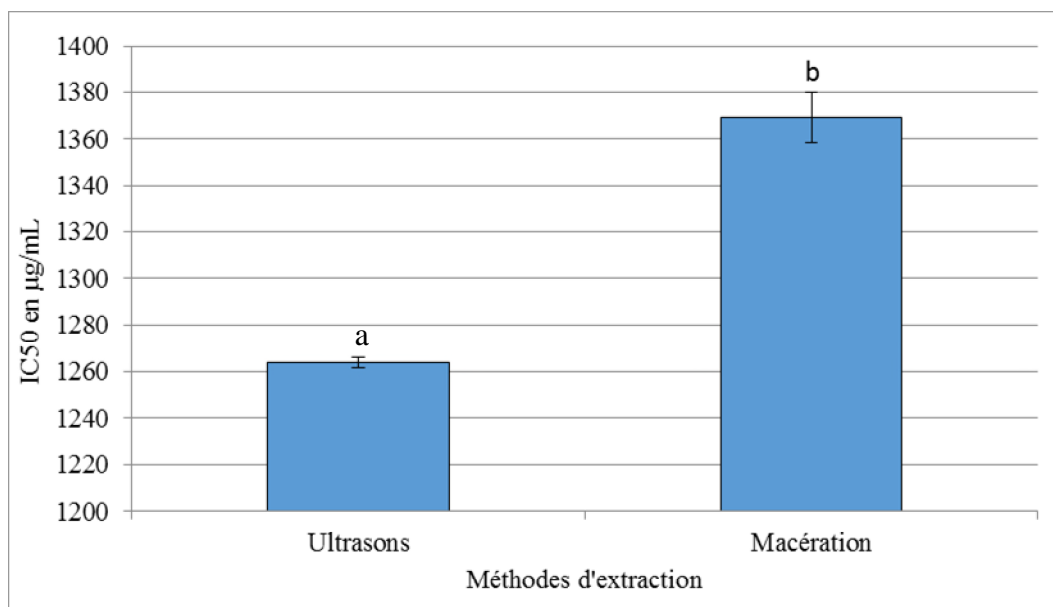


Figure 19: Influence des méthodes d'extractions sur le pouvoir réducteur des extraits des feuilles du *Brassica rapa*. (les lettre a,b signifie une différence significative)

5 Résultats de l'analyse sensorielle

Avant d'effectuer les différents tests sur XLSTAT, un plan d'expérience a été réalisé. Une fois les données des jurys experts sont rapportées sur le logiciel; la procédure de génération d'un plan d'expérience est lancée. Pour chacune des catégories d'analyse sensorielle et d'analyse hédonique, un plan d'expérience optimal a été trouvé, ce qui valide les autres tests sur XLSTAT.

5.1 Caractérisation des produits

Cette analyse permet de caractériser rapidement des produits en fonction des préférences des juges, donc il s'agit d'identifier les descripteurs qui discriminent le mieux les produits et de déterminer les caractéristiques importantes de ces derniers, dans le cadre de l'analyse sensorielle (Husson *et al.*, 2009).

5.1.1 Pouvoir discriminant par descripteur

Ce présent test permet d'afficher les descripteurs ordonnés de celui qui a le plus fort pouvoir discriminant sur les produits à celui qui a le plus faible (Figure 20).

➤ Résultats

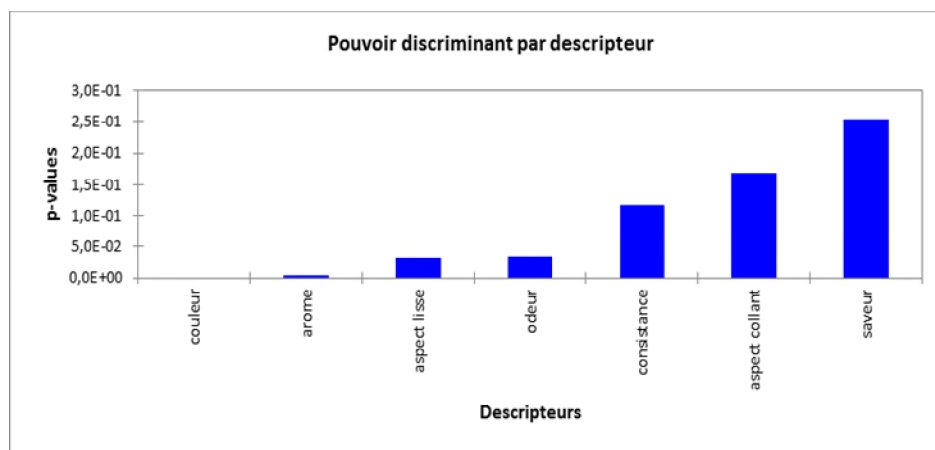


Figure 20: Pouvoir discriminant par descripteur.

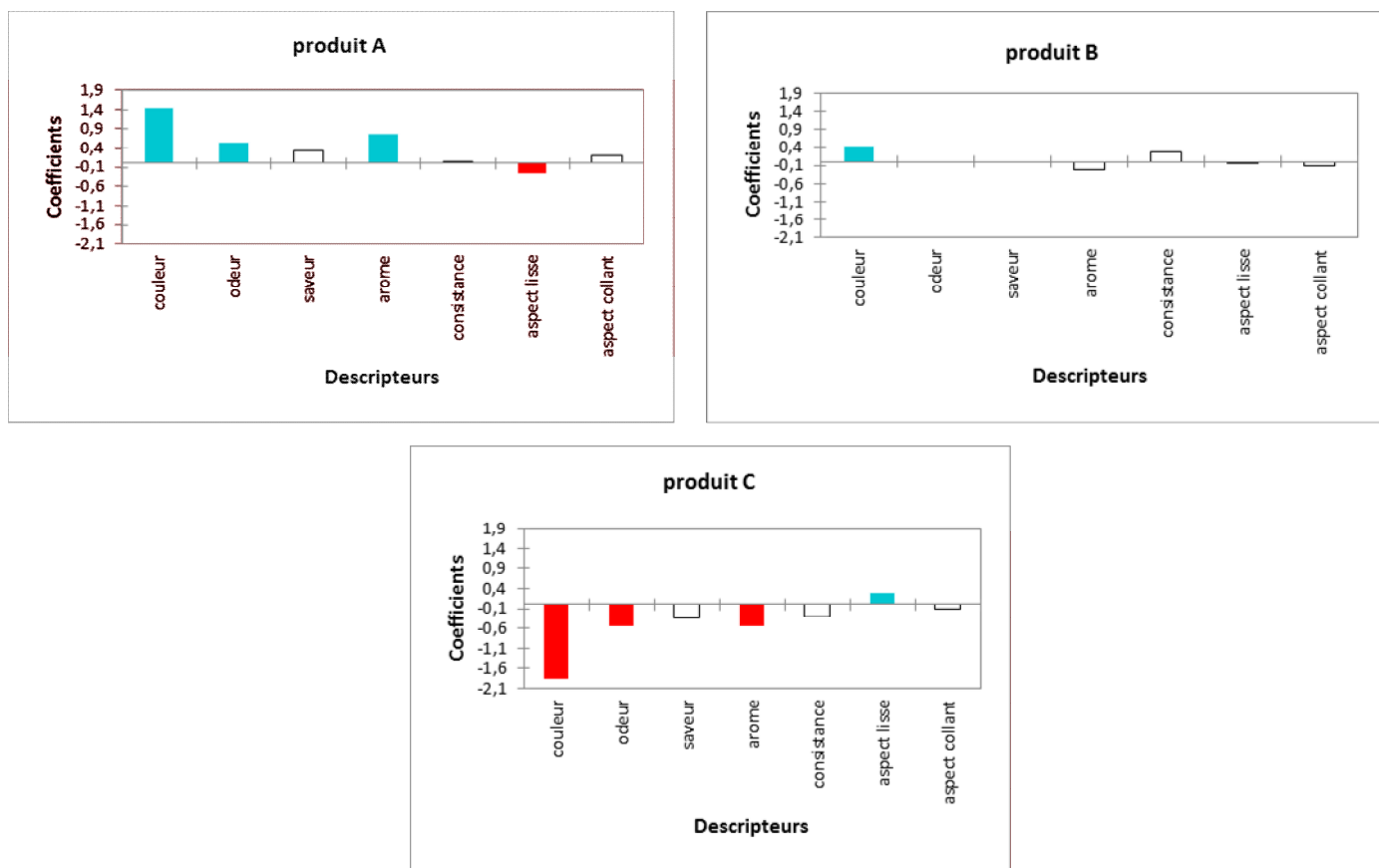
➤ discussion

Le graphe précédant rassemble les descripteurs ordonnés du plus discriminant au moins discriminant sur les trois échantillons des pâtes alimentaires (Trida). Ils permettent de visualiser que la couleur et l'arôme sont les descripteurs les plus discriminants. Par contre, la saveur, l'aspect collant, la consistance, l'odeur et l'aspect lisse sont les moins discriminés, mais le descripteur saveur est celui qui a le pouvoir discriminant le très faible.

5.1.2 Coefficient des modèles

Dans ce test sont affichés pour chaque descripteur et pour chaque produit les coefficients du modèle sélectionné.

➤ Résultats



Les résultats des coefficients du modèle sont représentés dans les figures suivantes :

Figure 21: Coefficient des modèles des trois produits des pâtes alimentaires (Trida).

➤ Discussion

Produit A : En bleu, sont affichées les caractéristiques dont le coefficient est significativement positif, donc le produit A possède une couleur vert foncé, son odeur est forte, l'arôme est agréable. En blanc, sont affichées les caractéristiques du produit qui ont des notes proches de la moyenne, ces caractéristiques sont: la saveur, la consistance et l'aspect collant. En rouge, sont affichées les caractéristiques ayant des notes inférieures à la moyenne. Donc aspect lisse pénalise le produit.

Produit B : la figure illustre que, la couleur présentée en bleu est la seule caractéristique détectée de la part des membres de jurys. En blanc, sont affichées les caractéristiques du

produit qui ne sont pas détectées. Donc en résumé, le produit B est caractérisé par une couleur vert clair.

Produit C : caractérisé par couleur beige, son odeur est faible, l'arôme est désagréable. En bleu, la seule caractéristique qui est l'aspect lisse appréciée par tous les jurys. Les autres caractéristiques (la saveur, la consistance, l'aspect collant) ont des notes proches de la moyenne.

5.1.3 Moyennes ajustées par produit

Le but de ce test est de définir les moyennes ajustées calculées à partir du modèle pour chaque combinaison descripteur produit (Husson et al., 2009). En bleu sont illustrées les moyennes qui sont significativement plus grandes que la moyenne globale et en rouge celles qui sont significativement plus petites que la moyenne globale. En blanc, les moyennes qui ne sont pas significativement plus grandes ou plus petites que la moyenne globale.

➤ Résultats

Les résultats sont donnés dans le tableau suivant :

Tableau VI : Moyennes ajustées par produits.

Produit	Odeur	Saveur	Couleur	Arôme	Aspect collant	Consistance	Aspect lisse
A	3,222	2,778	4,889	3,000	2,000	2,889	2,889
B	2,667	2,444	3,889	2,000	1,667	3,111	3,111
C	2,111	2,111	1,556	1,667	1,667	2,556	3,444

➤ Discussion

Produit A : nous remarquons que les descripteurs odeur, couleur, arôme ont un effet significativement positif sur le produit. Par contre, l'aspect lisse a un effet significativement négatif.

Produit B : le descripteur couleur qui a un effet significativement positif sur le produit.

Produit C : les descripteurs odeur, couleur, arôme ont un effet significativement négatif sur le produit. Par contre, l'aspect lisse a un effet significativement positif.

5.2 Cartographie externe de préférence (PREFMAP)

La cartographie externe des préférences permet de visualiser sur une même représentation graphique (en deux ou trois dimensions) d'une part des objets, et d'autre part des indications montrant le niveau de préférence de juges (en général des consommateurs) en certains points de l'espace de représentation.

Afin de pouvoir effectuer une cartographie de préférence externe, de deux types de données sont nécessaires :

1. Les notes d'acceptabilité attribuées par les consommateurs pour chaque échantillon pour réaliser une Classification Ascendante Hiérarchique (CAH).
2. Les notes moyennes données par les experts pour chaque attribut étudié pour effectuer une Analyse en Composante Principale (ACP).

➤ Analyse en composantes principales (ACP)

L'ACP peut être considérée comme une méthode de projection qui permet de projeter les observations, depuis l'espace à p dimensions des p variables vers un espace à k dimensions, ($k < p$) tel qu'un maximum d'informations soit conservée (l'information est ici mesurée à travers la variance totale du nuage de points) sur les premières dimensions. Si l'information associée aux 2 ou 3 premiers axes représente un pourcentage suffisant de la variabilité totale du nuage de points, les observations peuvent être représentées sur un graphique à 2 ou 3 dimensions, facilitant ainsi grandement l'interprétation (Jolliffe, 2002).

➤ Résultats

La carte suivante permet de représenter les corrélations entre les variables et les acteurs par l'ACP :

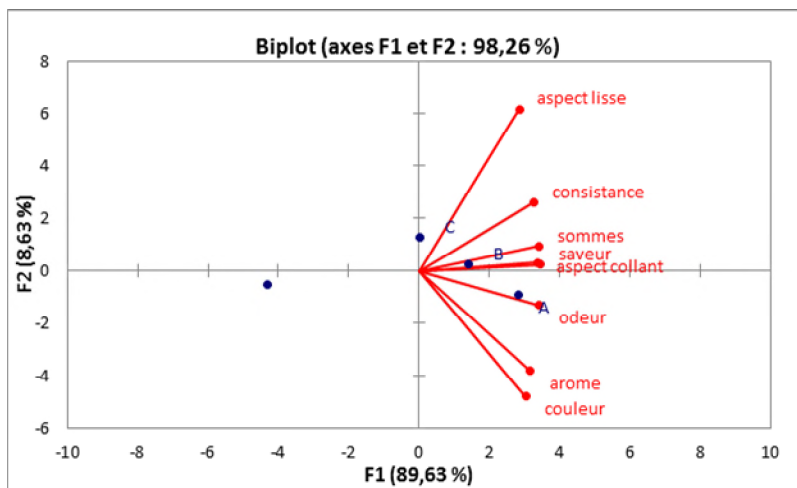


Figure 22: Corrélations entre les variables et les facteurs.

➤ **Discussion**

D’après cette figure nous voyons clairement que les critères couleur, odeur, arôme du produits A sont supérieure à celles des autres produits. Les produits B et C ont des caractéristiques proches essentiellement l’aspect lisse, la consistance, la saveur et l’aspect collant.

➤ **Classification Ascendant Hiérarchique (CAH)**

La classification ascendante hiérarchique est utilisée pour constituer des groupes homogènes d’objets (classes) sur la base de leur description par un ensemble de variables, ou à partir d’une matrice décrivant la similarité ou la dissimilarité entre les objets (Everitt, 2001).

➤ **Résultat :**

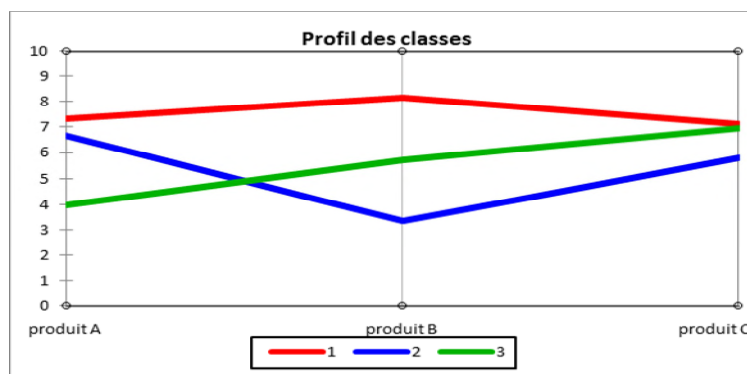


Figure 23: Profil de classes créés.

D'après la figure précédente: trois classes de consommateurs ont été créés à partir des notes de préférence:

La classe1: préfère d'abord le produit B puis le produit A ensuite C.

La classe2: préfère d'abord le produit A puis le produit C ensuite B.

La classe3: préfère d'abord le produit C puis le produit B ensuite A.

➤ Cartographie de préférence PREFMAP

D'après la figure suivante, les produits B et C sont les plus préférés, ils ont le même degrés de préférence. 80 à 100% des juges préfèrent les produits B et C vue leur caractéristique précédemment décrite. 60 à 80% des juges ont préféré le produit A.

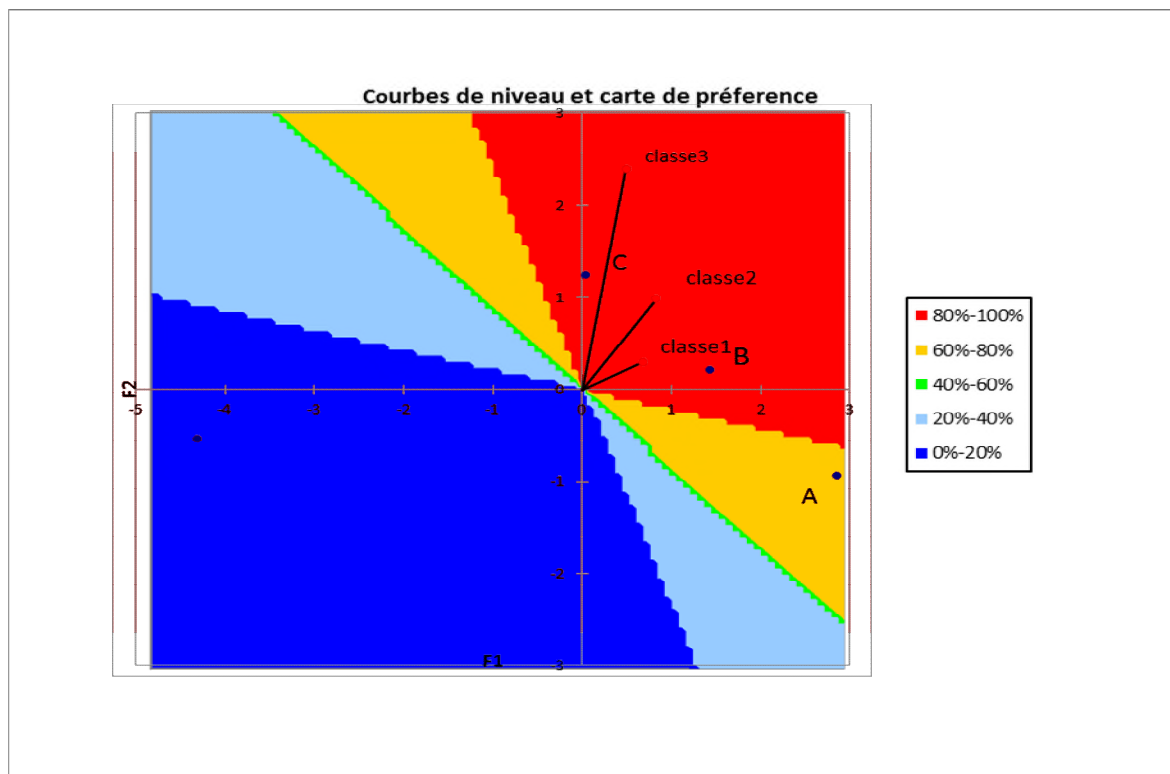


Figure 24 : Cartographie de préférence.

Brassica rapa L. renferme des potentialités pharmacologiques intéressantes dont la mise-à-jour pourrait donner à cette plante un nouvel essor. En outre, sa partie aérienne n'est pas valorisée comme ils devraient l'être en Algérie.

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes intéressés à l'étude de la partie aérienne de cette espèce qui est présente sur tout le pourtour du bassin méditerranéen, tout en essayant d'apporter les conditions d'extraction par ultrasons des composés bioactifs (composés phénoliques) qu'elle contient par une optimisation en utilisant le plan de surface de réponse.

L'optimisation a révélé que les variables concentration en éthanol (%); temps (min) et température (°C) avaient une interaction. Le plan central composite a permis ensuite de déterminer les optimums d'extraction efficace en réduisant le nombre d'expériences. Ces optimums sont la concentration en éthanol de 44,6% pendant 41 minutes à 25 °C.

Les résultats de la comparaison de l'efficacité de cette nouvelle méthode d'extraction avec une méthode conventionnelle (macération) montrent que l'extraction assistée par ultrasons (EAU) est la meilleure sur le plan économique par un gain important de temps, pour l'extraction des composés phénoliques à partir de la partie aérienne de *B. rapa*.

En effet, le dosage quantitatif des polyphénols totaux d'extrait obtenu par EAU déterminé par la méthode de Folin-Ciocalteu est estimé à $265,66 \pm 4,72$ mg EAG/g MS au lieu de 195 ± 1 mg EAG/g de MS pour la macération. Cette méthode d'extraction (EAU) a révélé également la teneur la plus importante en flavonoïdes qui est de $135,7 \pm 9,85$ mg EQ/g de MS comparativement à celle obtenue par macération qui est de $98,6 \pm 11$ mg EQ/g de MS.

L'évaluation du pouvoir antioxydant par les méthodes au DPPH, à ABTS et au ferrocyanure de potassium (pouvoir réducteur), des extraits obtenus par EAU, a montré un pouvoir important avec des valeurs d'IC₅₀ de 102,24; 331,89 et 1263,75 µg/mL, respectivement. Tandis que, l'extrait obtenu par la méthode conventionnelle a révélé des valeurs d'IC₅₀ plus élevées qui sont de $1369 \pm 10,75$; $173,37 \pm 1,97$; $342,44 \pm 4,37$ µg /mL pour le pouvoir réducteur et les méthodes au DPPH et à ABTS, respectivement.

Ces résultats confirment l'intérêt de la valorisation de la partie aérienne du *Brassica rapa* en vue de sa richesse en antioxydants (composés phénoliques, flavonoïdes).

Conclusion et perspectives

Elle peut donc être utilisée comme antioxydant et comme colorant dans différentes industries telles que les industries agro-alimentaire, pharmaceutique et cosmétique. Afin de la valoriser et permettre aux produits alimentaires de garder le label Bio nous avons pensé à l'élaboration des produits alimentaires à base d'un colorant naturel. Deux concentrations différentes de la poudre de cette partie a été incorporée dans les pâtes alimentaires traditionnelles appelées Timketefeth afin d'obtenir deux produit avec deux intensité de couleur différente. Les pâtes élaborées ont fait l'objet d'une analyse sensorielle et hédonique. Les résultats obtenus ont révélé la préférence des pates auxquelles sont ajoutés des petites quantités de la poudre, par les sujets experts et naïfs.

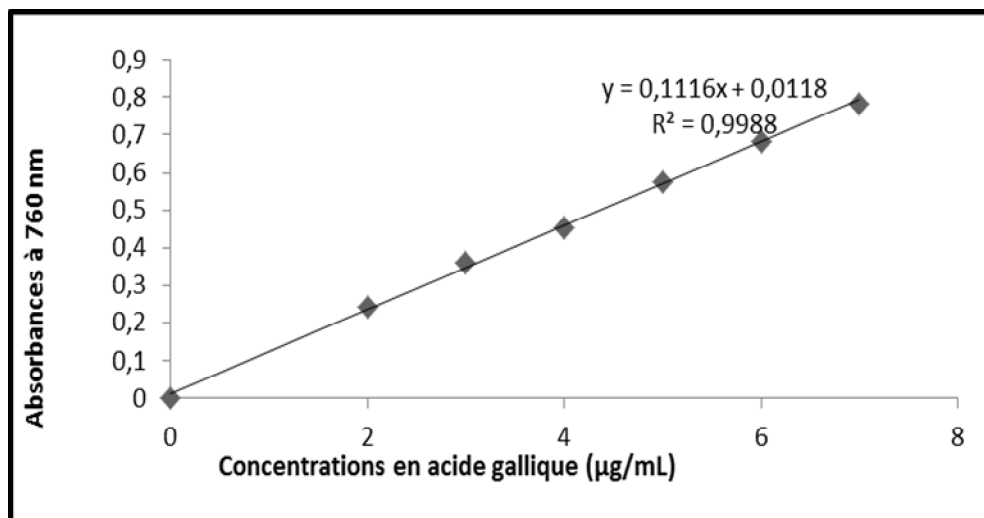
Enfin, en termes de perspectives et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- ✓ d'étudier d'autres facteurs et conditions qui pourraient influencer l'optimisation de l'extraction des composés bioactifs tels que la fréquence des ultrasons, le pH, mais aussi la variété et le climat qui pourraient éventuellement améliorer le rendement de l'extraction ;
- ✓ d'utilise d'autres techniques d'extraction telle que l'extraction assistée aux microondes ;
- ✓ d'utiliser des techniques d'analyse avancées (HPLC, RMN... etc) pour mieux quantifier et identifier les antioxydants ;
- ✓ de réaliser des tests (*in vivo*) des extraits optimaux afin de déterminer leurs effets sur la santé;
- ✓ de réaliser une étude physico-chimique complète, de la matière première jusqu'au produit fini, y compris les poudres ;
- ✓ d'effectuer des analyses physico chimique et microbiologiques au produit alimentaire élaboré ;
- ✓ D'optimiser et de modéliser une meilleure formule par un plan d'expérience, en associant les résultats de l'analyse sensorielle et ceux de l'analyse physico-chimique.

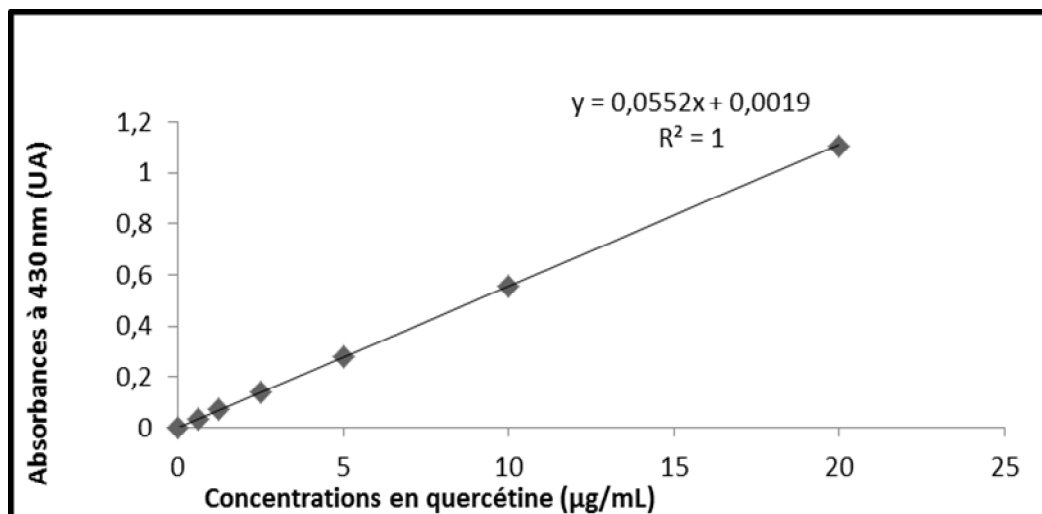
Annexe I : Matériels et réactifs

Reactifs	Matériels
-Carbonate de sodium (Na_2CO_3) (Biochem Chemopharma) -Acide sulfurique (Biochem Chemopharma) -Acide trichloracétique (TAC) (Riedel-de Haen) -Chlorure ferrique (FeCl_3) (Biochem Chemopharma) -DPPH (Sigma-Adrich) -ABTS(Sigma-Adrich) - Ethanol pure (Riedel-de Haen) -Ferricyanure de potassium ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$) (Biochem Chemopharma) -Tampon phosphate (TP) -Réactif de Folin–Ciocalteu (Biochem Chemopharma)	-Bain marie (Ultrasons H-D) -Bain marie (Raypa) -Balance de précision (Radwag) -Balance de précision (Sartorius) -Dessiccateur -Etuve ventilée (Memmert) -Micropipette (Accumax) -pHmètre (Hanna pH 211) -Plaque magnétique (Multistirrer Magniticstirrer) -Spectrophotomètre (UV/visible- 9200) -Tamiseur (Retsch)

Annexe II : Courbes d'étalonnage pour le dosage des composés phénoliques (polyphénols totaux et flavonoïdes).



Annexe II.1 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols totaux.



Annexe II.2 : Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Annexe III : Questionnaire pour analyse sensorielle des pâtes (panel expert).

Date/.../....

Nom et prénom :.....

Sexe : masculin féminin

Dans l'optique de réaliser une caractérisation sensorielle des pâtes 2 échantillons vous sont présentés codés 1 et 2 et 3. Il vous est demandé de les goûter et de les examiner successivement, puis répondre aux questions suivantes :

NB : après chaque dégustation, veuillez-vous rincer la bouche avec un peu d'eau.**1/ Couleur des pâtes :**

- 1- beige
- 2- blanche
- 3- jaune
- 4- vert clair
- 5- vert foncé

2/ Intensité de l'odeur :

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

- 1- très faible
- 2- faible
- 3- moyenne
- 4- forte
- 5- très forte

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

3/ Sensation en bouche :**A /la saveur**

- 1- très faible
- 2- faible
- 3- moyenne
- 4- forte
- 5- très forte

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

B/intensité de l'arome

- 1- très faible
- 2- faible
- 3- moyenne
- 4- forte
- 5- très forte

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

3/Texture en bouche (consistance)

- 1- très dure
- 2-dure
- 3-moyenne
- 4-tendre5
- très tendre

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

4/Aspect lisse :

- 1- très rugueuse
- 2- rugueuse
- 3-moyennement lisse
- 4-lisse
- 5-très lisse

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

4/Aspect collant :

- 1- très faible
- 2-faible
- 3-moyenne
- 4-forte
- 5-très forte

Echantillon1	Echantillon2	Echantillon3

5/Appréciation globale :

Attribuez une note global allant de **1 à 9** pour chaque échantillon, sachant que :

- 1- Correspond à l'échantillon le moins préféré
- 9- Correspond à l'échantillon le plus préféré

Echantillons	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3

Annexe IV : Questionnaire pour analyse hédonique des pâtes.

Nom :.....

Prénom :.....

Age :.....

sexe :

Date :.....

1. Préférence générale :

Dans l'optique de réaliser une caractéristique sensorielle des pâtes. Trois (3) échantillons vous sont présentés codés 1, 2,3. Il vous est demandé de les goûter et de les examiner successivement, puis répondre aux questions suivantes :

N.B: veuillez rincer la bouche après chaque dégustation d'un échantillon.

2. Appréciez-vous La couleur ?

1. Non appréciée
2. Peu apprécié
3. Moyennement apprécié
4. Bien appréciée
5. Très appréciée

Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3

3. Appréciez-vous l'odeur :

1. Non appréciée
2. Peu appréciée
3. Moyennement appréciée
4. Bien appréciée
5. Très appréciée

Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3

4. Appréciez-vous le goût ?

1. Non appréciée
2. Peu appréciée
3. Moyennement appréciée
4. Bien appréciée
5. Très appréciée

Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3

6. Appréciation globale :

Attribuer une note entre 1 et 9 pour chaque échantillon selon son appréciation comme présenté dans l'échelle ci-dessous :

1. Extrêmement désagréable
2. Très désagréable
- 3- Désagréable
- 4- Assez désagréable
- 5- Ni agréable ni désagréable
- 6-Assez agréable
- 7-Agréable
- 8-Très agréable
9. Extrêmement agréable

	Echantillon 1	Echantillon 2	Echantillon 3

Résumé

L'extraction est une étape clé dans l'étude des substances bioactives ainsi le but de cette étude est la valorisation de la partie aérienne du navet (*Brassica rapa*) en optimisant les conditions d'extraction de leurs composés phénoliques par une extraction assistée aux ultrasons (EAU). Un plan central composite de la méthodologie de surface de réponse (MSR) à trois facteurs (concentration d'éthanol ; temps et température) est utilisé afin d'optimiser les paramètres d'extraction des polyphénols totaux de la partie aérienne du navet. Les conditions expérimentales optimales permettant une maximisation de l'extraction des polyphénols du mélange étudié sont ; le solvant (éthanol) à une concentration de 44,6% et la température de 25 °C pour un temps de 41 minutes. Une comparaison entre les résultats obtenus par l'EAU avec ceux trouvés en appliquant les mêmes conditions mais avec une extraction conventionnelle (macération) a révélé l'efficacité de la méthode innovante. D'ailleurs, la quantification des antioxydants de l'extrait obtenu par EAU a montré des valeurs plus importantes avec une différence significative à $P \leq 0,05$ qui sont de 265.66 ± 4.72 mg EAG/g MS et 135.7 ± 9.85 mg EQ/g MS pour les polyphénols et les flavonoïdes, respectivement. En outre, l'évaluation de l'activité antioxydante (réduction du Fer) et anti-radicalaire (DPPH[•] et l'ABTS^{•+}) a montré que l'extrait obtenu par l'EAU est plus actif en donnant des valeurs d'IC₅₀ plus faibles qui sont de 1263.75 ± 2.25 ; $102,24 \pm 5,54$; $331,89 \pm 2,65$ µg/mL pour le pouvoir réducteur et les tests aux DPPH et à l'ABTS, respectivement. Une valorisation de la partie aérienne de *Brassica rapa* est effectuée en l'utilisant comme colorant naturel dans l'élaboration des pâtes alimentaire.

Mot clés : *Brassica rapa*; optimisation; extraction assistée par ultrasons; polyphénols; antioxydants; valorisation.

Abstract

Extraction is an essential step in the study of bioactive substances so the aim of this study was to valorize the aerial part of the turnip (*Brassica rapa* L.) by optimizing the extraction conditions of their phenolic compounds by ultrasonic assisted extraction (UAE). A central composite design of the response surface methodology (RSM) with three-factor (ethanol concentration, time and temperature) was used to optimize extraction parameters of total polyphenols from the aerial part of the turnip. Optimal experimental conditions allowing maximization of polyphenol extraction from the studied mixture were; the solvent (ethanol) at a concentration of 44.6% and the temperature of 25 °C for a time of 41 minutes. A comparison between the results obtained by the UAE with those found by applying the same conditions but with a conventional extraction (maceration) revealed the effectiveness of the innovative method. Moreover, the quantification of the antioxidants of the extract obtained by UAE showed best values with a significant difference at $P \leq 0.05$ which were 265.66 ± 4.72 mg GAE /g DM and 135.7 ± 9.85 mg QE/g DM for total phenolics and flavonoids, respectively. In addition, the evaluation of the antioxidant (iron reduction) and anti-radical activities (DPPH[•] and ABTS^{•+}) showed that the extract obtained by UAE was more active by giving lower values of IC₅₀ that were 1263.75 ± 2.25 ; 102.24 ± 5.54 ; 331.89 ± 2.65 µg/mL for reducing capacity and for DPPH and ABTS tests, respectively.

Keywords: *Brassica rapa*; optimization; ultrasound-assisted extraction; polyphenols antioxidants; valorization.