

*République Algérienne Démocratique et Populaire*  
*Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique*  
**Université A. MIRA – Bejaia**

*Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*  
*Département de Biologie Physico-chimique*  
*Filière : Sciences Biologiques*  
*Option : Biochimie Fondamentale*



**Réf :.....**

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

**MASTER**

*Thème*

***Optimisation de l'extraction des composés  
phénoliques de Retama sphaerocarpa par la  
méthode des surfaces de réponse***

Présenté par :

**BOUMEGUET Fatiha & BOUNAB Kamelia.**

Soutenu le : **14 Septembre 2022**

Devant le jury composé de :

Mme Bensalem –Bournine S.	MCA	Présidente
Mr Tacherfiout M.	MCB	Encadreur
Mr Zaidi H.	MCB	Examineur

**Année universitaire : 2021/2022.**

## **REMERCIEMENT**

*Nous remercions Dieu, le tout puissant, pour nous avoir donnée la force, la patience et la volonté d'achever ce travail.*

*Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promoteur Dr. **TACHERFIOUT Mustapha**, pour ses conseils, sa disponibilité et son soutien, soyez assuré Docteur, de toutes notre estime et notre profond respect.*

*Nous exprimons nos remerciements à Mme **BENSALEM-BOURNINE S.** d'avoir accepté de présider le jury ainsi que Mr **Zaidi H.** d'avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Un grand merci à toutes personnes ayant participé de près ou de loin à notre formation, et à tous ceux qui nous ont apporté leur soutien et leurs encouragements durant la réalisation de ce travail.*

**Fatiha et Kamelia**



## *Dédicaces*

*Je remercie le bon Dieu pour le courage, la pertinence qui m'ont été utiles tout au long de mon parcours. Mes dédicaces les plus chaleureuses*

*sont adressées:*

*Aux êtres qui me sont très chers ; mes parents que dieu les protège.*

***Ma mère** : aucune dédicace ne serait exprimée l'affection et l'amour que j'éprouve pour elle.*

***Mon père** : A celui qui a sacrifié toute sa vie pour me guider et m'encourager avec ces précieux conseils et son soutien tout au long de mes études.*

*Mes frères : **Omar, Ahcene, Salah, Smail***

*Mes adorables sœurs : **Fatima, Ouardia***

*Sans oublier mes amies (**Macilia, Yasmina, Silina, Saghira, Amani, Kahina**) et tous ceux qui m'ont aidé à réaliser ce travail.*

*A ma binôme **Kamelia** et à toute sa famille.*

*A ma famille sans exception et à tous ceux qui m'ont orienté dans la bonne voie pour devenir ce que je suis aujourd'hui. A tous ceux que j'aime et qui m'aiment.*

*A la mémoire de mes grands-parents*

**FATIHA**

**CLASS OF  
2022**





## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu le tout puissant est enfin achevé ce travail ;  
le quel je dédie à toutes les personnes qui me sont chères ;*

*A ceux qui ont donné un sens à mon existence, en m'offrant une  
éducation digne de confiance ; A ceux qui m'ont soutenu  
nuits et jours et durant tout mon parcours ;  
A mes très **chers parents**, que Dieu me les protège.*

*A celui qui m'a toujours aidé et encouragé,  
Qui a été toujours à mes côtés tout au long de ce projet :  
mon cher fiancé **MASSI***

*A mes très chères sœurs et cher frère :  
**KATIA, OUSSAMA et HANANE***

*A mes adorables et très chères amies :  
**Katia, Souad, Djamila, Lynda, Lamia, Lydia, Massilia***

*A ma grande famille petits et grands, cousins et cousines, tantes, et oncles*

*A celle avec qui j'ai partagé ce projet de fin de cycle  
ma binôme: **FATIHA**  
Et à toutes personnes qui m'ont aidé à atteindre mon objectif.*

## *Kamelia*



**CLASS OF  
2022**

# *Sommaire*

## Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction..... 1

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

I.1	Généralité sur <i>Retama sphaerocarpa</i> .....	2
I.1.1	Définition .....	2
I.1.2	Classification.....	3
I.1.3	Aire de répartition .....	3
I.1.4	Caractéristiques botaniques .....	3
I.1.5	Composition chimique .....	4
I.1.6	Intérêt de <i>R. sphaerocarpa</i> .....	4
I.1.6.1	Intérêt écologique .....	4
I.1.6.2	Intérêt pharmacologique .....	5
I.2	Composés phénoliques .....	5
I.2.1	Définition des Composés phénoliques.....	5
I.2.2	Classification.....	6
I.2.3	Méthodes d'extraction.....	8
I.2.3.1	Extraction par Macération .....	8
I.2.3.2	Extraction par Soxhlet .....	8
I.2.3.3	Extraction liquide-liquide .....	8
I.2.3.4	Extraction assistée par ultrasons .....	8
I.2.3.5	Extraction assistée par micro-ondes .....	9
I.2.3.6	Extraction par fluide supercritique .....	9
I.2.4	Activités biologiques .....	9
I.2.4.1	Activité antioxydante.....	9

---

I.2.4.2	Effets anti-inflammatoires .....	10
I.2.4.3	Effets anticancéreux .....	10
I.3	Généralités sur les plans d'expérience.....	10
I.3.1	Définition .....	10
I.3.2	Terminologie.....	10
I.3.2.1	Réponse .....	10
I.3.2.2	Facteurs.....	11
I.3.2.3	Domaine du facteur .....	11
I.3.2.4	Niveau.....	11
I.3.2.5	Domaine expérimental.....	11
I.3.2.6	Domaine d'étude.....	11
I.3.2.7	Matrice d'expérience .....	11
I.3.3	Les types de plan d'expérience .....	12
I.3.4	Le plan de surface de réponse .....	12
I.3.5	Le plan de Box-Behnken.....	12
I.3.5.1	Le modèle mathématique postulé .....	13

## **Chapitre II: Matériel et méthodes**

II.1	Matériel.....	14
II.1.1	Matériel Végétale .....	14
II.1.2	Produits chimiques et dispositifs expérimentaux .....	15
II.2	Méthodes .....	15
II.2.1	Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques.....	15
II.2.2	Tests préliminaires .....	16
II.2.2.1	Choix du solvant d'extraction.....	16
II.2.2.2	Choix de la polarité du solvant d'extraction.....	16
II.2.2.3	Choix du temps d'extraction.....	16
II.2.2.4	Choix de la vitesse d'agitation.....	16
II.2.2.5	Choix du ratio .....	17
II.2.3	Application du plan de Box-Behnken .....	17
II.2.4	Dosage des composés phénoliques .....	18

---

II.2.5	Analyses statistiques .....	19
--------	-----------------------------	----

**Chapitre III: Résultats et discussion**

III.1	Effet des paramètres sur l'extraction des composés phénoliques.....	20
III.1.1	Effet du solvant .....	20
III.1.2	Effet de la polarité .....	21
III.1.3	Effet du temps d'extraction .....	22
III.1.4	vitesse d'agitation.....	23
III.1.5	Ratio .....	24
III.2	Le plan d'expérience Box-Behnken .....	25
III.2.1	Analyse des résultats .....	25
III.2.2	Coefficient de corrélation.....	27
III.2.3	Estimation des coefficients.....	28
III.2.3.1	Effet linéaire.....	29
III.2.3.2	Effet d'interaction .....	30
III.2.3.3	Effet quadratique.....	31
III.2.4	Modèle mathématique .....	31
III.2.5	Solution .....	31
	<b>Conclusion.....</b>	<b>33</b>
	<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>34</b>
	<b>Annexes</b>	
	<b>Résumé</b>	



**Liste des abréviations**

**BBD:** *Box-Behnken Design*

**EAG:** Equivalent Acide Gallique

**FC:** Folin-ciocalteu

**g/ml:** Gramme par millilitre

**JMP14:** *John's Macintosh Project 14*

**mg Eq AG/g M.S:** Milligramme équivalent en acide gallique par gramme de la matière sèche.

**MS:** Matière sèche

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:** Carbonate de sodium

**nm:** Nanomètre

**PT:** Polyphénols totaux

**rpm:** Rotation par minute

**R<sup>2</sup>:** Coefficient de corrélation

**RSM:** Surface des réponses

***R.sphaerocarpa:*** *Retama sphaerocarpa*

**CPT:** Composés phénoliques totaux

**µl:** Microlitre

**µm:** Micromètre

**UV:** ultra-violet

**X1 :** La polarité

**X2 :** Le temps d'extraction

**X3 :** La vitesse d'agitation

**Liste des figures**

<b>Figures</b>	<b>Titre</b>	<b>page</b>
<b>Figure 1</b>	Photographie de <i>Retama sphaerocarpa</i> (photo originale).	2
<b>Figure 2</b>	Répartition géographique du genre <i>Retama</i> dans le bassin Méditerranéen.	5
<b>Figure 3</b>	Représentation schématique du domaine du facteur avec ces trois niveaux.	11
<b>Figure 4</b>	Plan de Box-Behnken pour trois facteurs.	13
<b>Figure 5</b>	Les différentes étapes de la préparation du matériel végétal.	14
<b>Figure 6</b>	Effet de la nature du solvant sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>R. sphaerocarpa</i> .	20
<b>Figure 7</b>	Effet de la concentration du méthanol sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>R. sphaerocarpa</i> .	21
<b>Figure 8</b>	Effet du temps d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>R. sphaerocarpa</i> .	23
<b>Figure 9</b>	Effet de la vitesse d'agitation sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>R. sphaerocarpa</i> .	24
<b>Figure 10</b>	Effet du ratio sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de <i>R.sphaerocarpa</i> .	25
<b>Figure 11</b>	Graphiques des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	28
<b>Figure 12</b>	Graphiques de surface de réponse montrant pour les interactions des trois facteurs.	30

**Liste des tableaux**

<b>Tableaux</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>Tableau I</b>	Classification de l'espèce <i>Retama sphaerocarpa</i> .	3
<b>Tableau II</b>	Principales classes des composés phénoliques.	7
<b>Tableau III</b>	Conditions d'extraction utilisées dans les tests préliminaires.	17
<b>Tableau IV</b>	Niveau des variables choisis pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols totaux par macération.	17
<b>Tableau V</b>	Matrice d'expérience donnée par le plan de Box-Behnken appliquée à l'extraction des composés phénoliques de <i>Retama sphaerocarpa</i> .	18
<b>Tableau VI</b>	Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite précis pour les extraits de <i>Retama sphaerocarpa</i> obtenues par macération.	27
<b>Tableau VII</b>	Estimation des coefficients de régression du modèle polynomial de deuxième degré.	29
<b>Tableau VIII</b>	Conditions optimales d'extraction des polyphénols totaux à partir de la poudre des tiges de <i>R.sphaerocarpa</i>	32

# *Introduction*

## **Introduction**

Les plantes médicinales ont été utilisées dans presque toutes les cultures comme source de traitement pour diverses maladies. L'utilisation des plantes médicinales dans la plupart des pays en développement comme base normative pour le maintien d'une bonne santé a été largement observé. De plus, les plantes médicinales sont devenues plus populaire en raison des coûts croissants de la santé (*Hoareau and DaSilva, 1999*).

Ces dernières années, les chercheurs ont porté une attention particulière aux ingrédients biologiquement actifs, en particulier les polyphénols et les alcaloïdes en raison de leurs effets positifs sur la santé humaine (*Maran et al., 2015*). Les composés phénoliques exercent divers effets tels qu'agent antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire, et la pour la prévention des maladies cardiovasculaires, cancers, le diabète ...etc (*Zhang et al., 2022*).

Le genre *Retama* de la famille des Fabacées est originaire du bassin méditerranéen. En Algérie, trois espèces apparentées à ce genre ont été signalées : *R. sphaerocarpa* (L.) Boiss., *R. raetam* et *R. monosperma* Boiss (*Kheloufi et al., 2020*).

Une réexamination des constituants chimiques des parties aériennes et des racines de *R. Sphaerocarpa* a été faite ce qui a abouti à l'isolement et l'identification de deux flavonoïdes (*Louaar et al., 2007*). D'autres travaux ont visé l'extraction des flavonoïdes et Alcaloïdes à partir de cette plante, les résultats confirment la présence des composés phénoliques, des flavonoïdes et des alcaloïdes (*Gagui and Guelil, 2021*).

Cette étude explore les conditions d'extraction des composés phénoliques de *Retama sphaerocarpa* par la méthode de surface de réponse (RSM). En effet, les conditions d'extraction peuvent ne pas être les mêmes pour différentes matières végétales car elles sont influencées par plusieurs paramètres, tels que la nature chimique de l'échantillon, le solvant utilisé, l'agitation, le temps d'extraction, le rapport soluté/solvant et la température (*Alberti et al., 2014*). La méthodologie de surface de réponse consiste en un ensemble de techniques mathématiques et statistiques qui peuvent être utilisé pour définir les relations entre la réponse et des variables indépendantes (*Maran et al., 2015*).

Le présent travail est divisé en trois chapitres. Le premier résume des notions essentielles sur les RSM ainsi que sur la plante étudiée, à savoir *R. sphaerocarpa*. Le deuxième chapitre est consacré à la description de la méthodologie utilisée. Enfin, le troisième chapitre expose les résultats obtenus ainsi que leur discussion.

*Chapitre I : Synthèse  
bibliographique*

## I. Synthèse bibliographique

### I.1 Généralité sur *Retama sphaerocarpa*

#### I.1.1 Définition

Le genre *Retama* fait partie de la famille des Fabaceae qui comprend quatre espèces, *R. monosperma*, *R. raetam*, *R. dasycarpa* et *R. sphaerocarpa*. Ce sont des arbustes vivaces qui peuvent former des plantations naturelles sans avoir besoin d'aide artificielle. *R. sphaerocarpa* aussi appelé Lygos sphaerocarpa, ou retama jaune. C'est un arbuste légumineux adulte sans feuilles, à tiges photosynthétiques, indigène vers la région méditerranéenne de l'Afrique du nord (Alami et al., 2021).

*R.sphaerocarpa* est connu sous différents noms, en arabe elle est connu sous le nom de Rtem, en français sous le nom de Rétam (Quezel et Santa (1962) et en berbère sous les noms de Tillugwit, illugwi, allugu, talggut (Bellakhdar, 1997).



Figure1 : Photographie de *Retama sphaerocarpa* (photo originale)

## I.1.2 Classification

Selon **Quezel et Santa (1962)**, les rétames sont classés dans le taxon suivant : (Tableau I)

Règne	Végétal
<b>Embranchement</b>	Spermaphytes
<b>Sous embranchement</b>	Angiospermes
<b>Classe</b>	Dicotylédones
<b>Ordre</b>	Fabales
<b>Super famille</b>	Légumineuses
<b>Famille</b>	Fabacées
<b>Sous famille</b>	Papilionacées
<b>Genre</b>	<i>Retama</i>
<b>Espèce</b>	<i>Retama sphaerocarpa</i>

## I.1.3 Aire de répartition

Le genre *Retama* est largement distribué en Afrique du Nord, aux îles Canaries, en Europe du Sud et en Asie de l'Est, avec un centre de diversification étroit en Afrique du Nord-Ouest (**Alami et al., 2021**). Les espèces du genre *Retama* poussent spontanément au sud de l'Europe et sur le pourtour du bassin méditerranéen : Maroc, Algérie, Égypte, Espagne (Andalousie), Portugal, Italie, et dans le désert sud asiatique (**Figure 2**) (**Fdil et al., 2012**). *Retama sphaerocarpa* est un arbuste vivace répandu dans la péninsule ibérique et le nord-ouest de l'Afrique (**López-Lázaro et al., 1999**).

## I.1.4 Caractéristiques botaniques

*R. sphaerocarpa* est une légumineuse ligneuse aux feuilles éphémères. Il peut atteindre jusqu'à 4 mètres de hauteur et 6 mètres de diamètre. L'arbuste a une structure de canopée ouverte et un système racinaire profond qui peut extraire de l'eau à des profondeurs inférieures à 25 mètres. Les branches ligneuses représentent la majorité de la biomasse aérienne (**Domingo et al., 1998**).



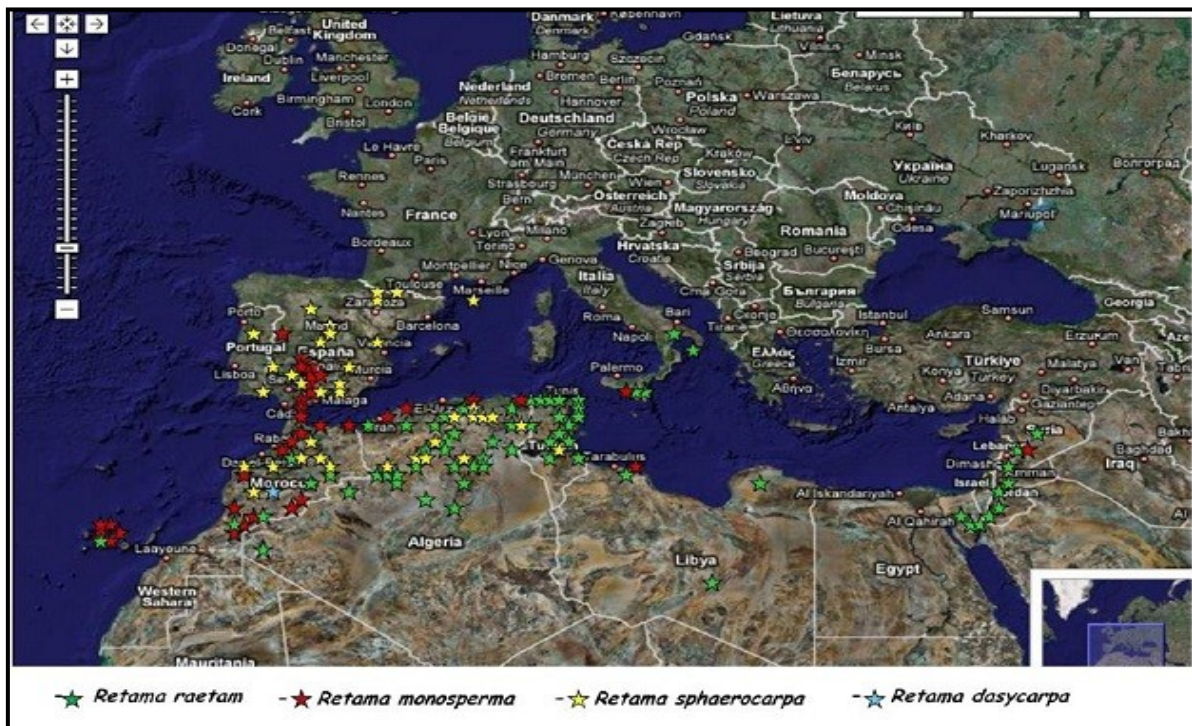


Figure 2 : Répartition géographique du genre *Retama* dans le bassin Méditerranéen (Radia, 2013).

### I.1.5 Composition chimique de *R. sphaerocarpa*

L'espèce *R. sphaerocarpa* est très riche en alcaloïdes. Plus de 20 alcaloïdes ont été rapportés dans les extraits des tiges et fleurs de *R. sphaerocarpa* (El-Shazly et al., 1996). Parmi les alcaloïdes trouvés chez *R. sphaerocarpa*, on trouve la rétamine, l'hydroxyspartéine, la d-spartéine, la cytisine et la sphérocarpine (Paris and Dillemann, 1960).

Les parties aériennes de *R. sphaerocarpa* contiennent aussi des flavonoïdes, tel que le glycosiderhamnazine-3-O- $\beta$ -glucopyranosyl-(1-5)- $\alpha$ -arabinofuranoside (Martín-Cordero et al., 1999). Le 7-hydroxy-6'-méthoxy-3',4'-méthylènedioxyisoflavone 7-O- $\beta$ -glucoside (6'-méthoxypseudobaptigenine 7-O- $\beta$ -glucoside) et deux isoflavones connues, la génistéine 7-O- $\beta$ -glucoside (génistine) et le daïdzéine 7-O- $\beta$ -glucoside (daïdzine) ont été également isolés des parties aériennes de *Retama sphaerocarpa* (Lazaro et al., 1998).

### I.1.6 Intérêt de *R. sphaerocarpa*

#### I.1.6.1 Intérêt écologique de *R. sphaerocarpa*

Le genre *Retama* facilite l'établissement et la croissance d'autres plantes. Ainsi, il joue un rôle écologique important dans les zones arides et semi arides en maintenant la diversité

végétale et le fonctionnement des écosystèmes. Les espèces du genre *Retama* sont des espèces précieuses et peuvent être utilisées pour la restauration et la réhabilitation des écosystèmes (Alami et al., 2021).

### 1.1.6.2 Intérêt pharmacologique de *R. sphaerocarpa*

Les parties aériennes de *R. sphaerocarpa* ont été traditionnellement utilisées comme emménagogue et abortive, elles sont également utilisées dans le traitement des verrues et de la constipation (López-Lázaro et al., 1999). Le genre *Retama* a été utilisé en médecine traditionnelle comme purgatif, vermifuge, antiémétique et désinfectant (Benaïssa et al., 2016).

## I.2 Composés phénoliques

### I.2.1 Définition des Composés phénoliques

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal et font partie intégrante de l'alimentation humaine et animale (Martin and Andriantsitohaina, 2002). Ce sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence des cycles aromatiques avec des groupes hydroxyles libres ou liés aux glucides. Ils sont présents dans toutes les parties des plantes supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollen, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques tels que la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits (Boizot and Charpentier, 2006). Plus de 8000 structures phénoliques variées sont actuellement connues, allant des simples molécules phénoliques de bas poids moléculaire telles que les acides phénoliques aux composés hautement polymériques tels que les tanins (Martin and Andriantsitohaina, 2002).

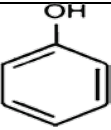
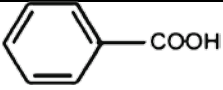
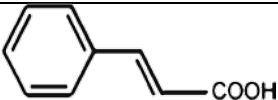
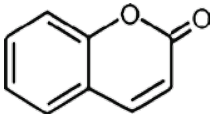
L'élément structurale fondamentale qui caractérise les polyphénols est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle, libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester, hétéroside (Jean, 2009). Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucré(s) lié(s) ou ils peuvent également être liés avec d'autres composés chimiques, tels que des acides carboxyliques, des amines ou des lipides ou avec d'autres phénols existent également (Martin and Andriantsitohaina, 2002).

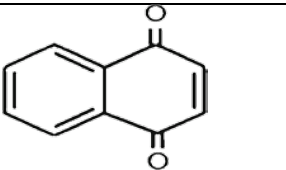
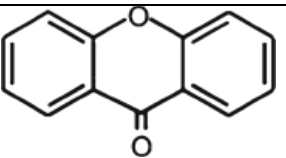
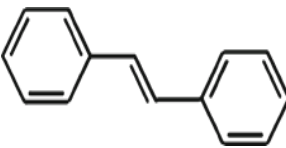
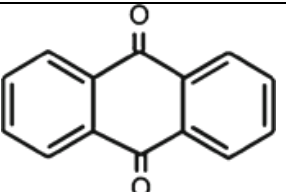
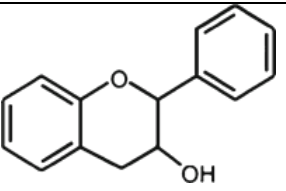
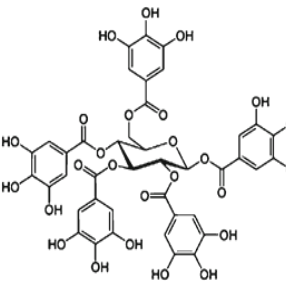
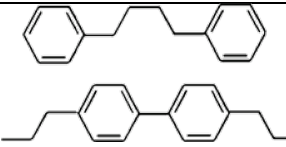
Dans la nature, la synthèse du noyau aromatique est le fait des seuls végétaux et microorganismes. (Jean, 2009). Ils sont synthétisés à partir de deux voies biosynthétiques : la voie de l'acide shikimique qui conduit après transamination, les oses aux aminoacides aromatiques puis par désamination de ces derniers, aux acides cinnamiques et à leurs dérivées (acide benzoïque, lignanes, coumarine, etc.) (Jean, 2009; Martin and Andriantsitohaina, 2002). La voie de l'acide acétique : conduit à des poly  $\beta$  cétoesters les polyacétates qui engendrent par cyclisation, des composées souvent polycycliques : chromones, quinones, etc. (Jean, 2009). De plus, la diversité structurale des composés polyphénoliques, due à cette double origine biosynthétique est encore accrue par la possibilité d'une participation simultanée des deux voies dans l'élaboration de composés d'origine mixte, les flavonoïdes (Martin and Andriantsitohaina, 2002).

### I.2.2. Classification

Les composés phénoliques peuvent généralement être classés en phénols simples et polyphénols.

**Tableau II :** Principales classes des composés phénoliques (Santos-Buelga et al., 2012).

Composés phénoliques	Structure	Exemple
Phénols simples (C6)		Phloroglucinol, catéchol, résorcinol, vanilline, syringaldéhyde
Acides phénoliques Acides hydroxybenzoïques (C6-C1)		acide p-hydroxybenzoïque, acide protocatéchique, acide vanillique, acide syringique, acide gallique
Acides hydroxycinnamiques (C6-C3) et dérivés		Acide caféique, acide coumarique, acide férulique, acide sinapique, acide chlorogénique
Coumarines (C6-C3)		Scopolétine, umbelliférone, aesculétine

<p>Naphtoquinones (C6-C4)</p>		<p>Juglone, pumblagin</p>
<p>Xanthones (C6-C1-C6)</p>		<p>Mangoustan, mangiférine</p>
<p>Stilbènes (C6-C2-C6)</p>		<p>Resvératrol, piceid, e-viniférines</p>
<p>Anthraquinones (C6-C2-C6)</p>		<p>Émodine, physcion</p>
<p>Flavonoïdes (C6-C3-C6) Flavan-3-ols</p>		<p>(Epi)catéchine, (épi)gallocatéchine</p>
<p>Tanins hydrolysables (gallotanins, ellagitanins)</p>		<p>Pentagalloylglucose, vescalagin, castalagin</p>
<p>Lignanes (C6-C2)<sub>2</sub></p>		<p>Secoisolariciresinol, matairesinol, sesamin, pinoresinol, syringaresinol</p>

## I.2.3 Méthodes d'extraction

### I.2.3.1 Extraction par macération

C'est une technique de vinification et a été adoptée dans la recherche sur les plantes médicinales. En macération, le matériel végétal entier ou grossièrement réduit en poudre est maintenu en contact avec le solvant dans un récipient bouché pendant une période donnée avec agitation répétée jusqu'à ce que les matières solubles soient dissoutes à température ambiante pendant une période. Le processus a pour but de ramollir et de briser la paroi cellulaire de la plante pour libérer les composés phytochimiques solubles (**Rashid et al., 2021**).

### I.2.3.2 Extraction par Soxhlet

L'extraction par Soxhlet a été traditionnellement utilisée pour un échantillon solide avec une solubilité limitée dans un solvant en présence d'impuretés insolubles. Une cartouche poreuse chargée d'un échantillon solide est placée à l'intérieur de la chambre principale de l'extracteur Soxhlet. En faisant refluer le solvant à travers la cartouche à l'aide d'un condenseur et d'un bras latéral de siphon, le cycle d'extraction est généralement répété plusieurs fois. L'extraction par Soxhlet est une technique robuste et bien établie (**Kim et al., 2012**).

### I.2.3.3 Extraction liquide-liquide

C'est un procédé de séparation consistant à transférer un soluté d'un solvant à un autre, les deux solvants étant non miscibles ou partiellement miscibles entre eux. Fréquemment, l'un des solvants est de l'eau ou un mélange aqueux et l'autre est un liquide organique non polaire (**Berk, 2018**).

### I.2.3.4 Extraction assistée par ultrasons

Les ondes ultrasonores se produisent à des fréquences comprises entre 20 kHz et 10 MHz qui traversent les solides, les liquides et les gaz et que l'homme ne peut pas entendre. Dans cette méthode d'extraction, des bulles de cavitation sont créées près du tissu de l'échantillon puis elles cassent la paroi cellulaire et donc le contenu cellulaire est libéré (**Jahromi, 2019**).

### **I.2.3.5 Extraction assistée par micro-ondes**

Les micro-ondes sont des rayonnements électromagnétiques dont les fréquences sont comprises entre 30 et 300 MHz. Ils génèrent de la chaleur en raison de l'induction de mouvements moléculaires, ce qui provoque la rupture de la paroi cellulaire et la libération de la substance active dans la cellule (**Jahromi, 2019**).

### **I.2.3.6 Extraction par fluide supercritique**

Dans cette méthode, le solvant est à une température et une pression supérieure à son point critique et il n'y a pas de tension superficielle. Par conséquent, il a simultanément les propriétés du liquide et du gaz qui peuvent être très efficaces pour l'extraction des composés phénoliques des plantes. Les faibles viscosités et les diffusivités élevées des fluides supercritiques leur permettent d'extraire les différents composés phénoliques en moins de temps avec une plus grande efficacité (**Jahromi, 2019**).

## **I.2.4 Activités biologiques des composés phénoliques**

Un rôle essentiel a été attribué aux divers polyphénols du monde végétal. Ces polyphénols sont reconnus pour leurs nombreuses activités biologiques, citons par exemple les activités antioxydante, anti-inflammatoires et anticancéreuses (**Marfak, 2003**).

### **I.2.4.1 Activité antioxydante**

La caractéristique la plus évoquée des polyphénols, et des composés phénoliques végétaux en général, est sans aucun doute leur capacité reconnue à piéger les espèces réactives de l'oxygène (ROS). Cette capacité dite antioxydante est fréquemment citée comme étant la propriété clé sous-tendant la prévention et/ou la réduction des maladies chroniques liées au stress oxydatif et des troubles liés à l'âge tels que les maladies cardiovasculaires (par exemple, l'athérosclérose), la carcinogénèse, la neurodégénérescence (par exemple, maladie d'Alzheimer), ainsi que la détérioration de la peau, par les (poly)phénols végétaux alimentaires et autres (**Quideau et al., 2011**).

### I.2.4.2 Effets anti-inflammatoires

Sous l'action de la cyclooxygénase et la lipooxygénase, l'acide arachidonique se métabolise respectivement en prostaglandines et leucotriènes induisant ainsi des phénomènes inflammatoires. Certains flavonoïdes sont capables de modifier le métabolisme de l'acide arachidonique dans les plaquettes (Marfak, 2003).

### I.2.4.3 Effets anticancéreux

Les flavonoïdes présentent une activité anti tumorale en inhibant la croissance cellulaire en empêchant certaines phases du cycle cellulaire et en bloquant les sites récepteurs des hormones, stabilisation du collagène, l'altération de l'expression des gènes, et la réduction des radicaux libres (Marfak, 2003).

## I.3 Généralités sur les plans d'expérience

### I.3.1 Définition

Les plans d'expériences sont des techniques qui permettent de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse et de les optimiser dans des domaines expérimentaux bien déterminés (Fadil et al., 2015). Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries. Les plans d'expériences permettent d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences (Goupy, 2006).

La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur deux notions essentielles :

- **Espace expérimental**
- **Modélisation mathématique** des grandeurs étudiées

### I.3.2 Terminologie

#### I.3.2.1 Réponse

La réponse est la grandeur qui est observée pour chaque expérience réalisée (Tinsson, 2010)

### I.3.2.2 Facteurs

Le facteur est toute variable, obligatoirement contrôlable, susceptible d'influer sur la réponse observée (Tinsson, 2010). La réponse dépend donc d'un ou de plusieurs facteurs. Le premier facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté (Goupy, 2006)

### I.3.2.3 Domaine du facteur

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur représenté dans la figure 03 (Goupy, 2006).

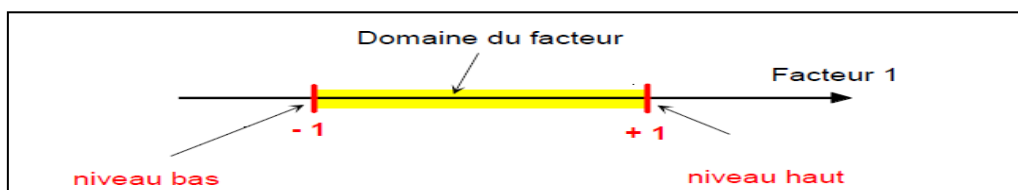


Figure 3 : Représentation schématique du domaine du facteur avec ses trois niveaux.

### I.3.2.4 Niveau

Le niveau est la valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai. Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes. La borne inférieure est le niveau bas et la borne supérieure est le niveau haut (Goupy, 2006).

### I.3.2.5 Domaine expérimental

C'est un ensemble de  $m$  facteurs quantitatifs utilisés afin d'expliquer au mieux un phénomène complexe. En pratique cet intervalle est simplement la plage de variations autorisée pour le facteur (Tinsson, 2010).

### I.3.2.6 Domaine d'étude

Dans la pratique, l'expérimentateur sélectionne une partie de l'espace expérimental pour réaliser son étude. Cette zone particulière de l'espace expérimental est le domaine d'étude (Goupy and Creighton, 2013).

### I.3.2.7 Matrice d'expérience

Les matrices d'expériences correspondent à une représentation mathématique de l'organisation des effets (Faucher, 2006).



### I.3.3 Les types de plan d'expérience

#### ➤ Plans de criblage

- Plans à un facteur à la fois
- Plans factoriels fractionnaires
- Plans sursaturés
- Plans factoriels complets

#### ➤ Plans de modélisation

- Plans factoriels complets
- Plans non conventionnels
- Plans composites centrés
- Plans de Doehlert
- Plans de Box-Behnken
- Plans de Roquemaure
- Plans D-optimaux
- Plans de mélange
- Plan de Plackett-Burmane (**Goupy, 1999**).

### I.3.4 Le plan de surface de réponse

La méthodologie de surface de réponse fait partie des plans d'expériences utilisés pour l'optimisation. C'est une modélisation empirique technique consacrée à l'évaluation de la relation d'un ensemble de facteurs expérimentaux contrôlés et observés avec les résultats (**Fadil et al., 2015**).

### I.3.5 Le plan de Box-Behnken

Box et Behnken ont proposé en 1960 ces plans qui permettent d'établir directement des modèles du second degré. Tous les facteurs ont trois niveaux :  $-1$ ,  $0$  et  $+1$ . Ces plans sont faciles à mettre en œuvre et possèdent la propriété de séquentialité. On peut entreprendre l'étude des  $k$  premiers facteurs en se réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués (**Goupy and Creighton, 2013**).

Les plans de Box-Behnken répondent à un critère d'optimisation particulier : l'erreur de prévision des réponses est la même pour tous les points d'une sphère (ou une hyper sphère) centrée à l'origine du domaine expérimental. C'est le critère d'isovariance par rotation. Le plus connu des plans de Box-Behnken est celui qui permet d'étudier trois facteurs (Goupy, 2006).

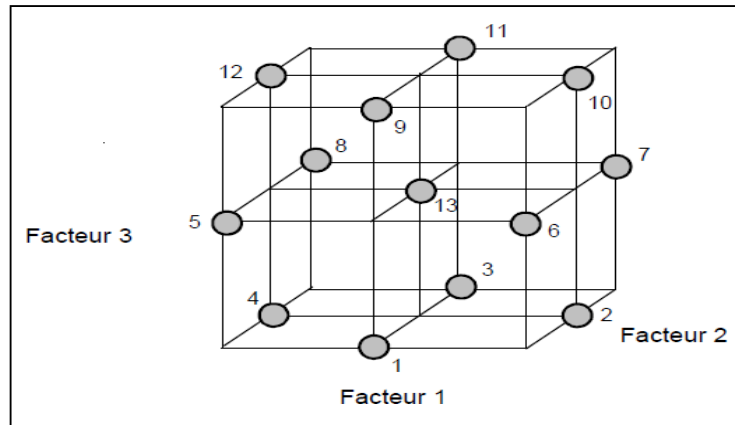


Figure 6 : Plan de Box-Behnken pour trois facteurs (Goupy, 2006).

### I.3.5.1 Le modèle mathématique postulé

On choisit a priori une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs. On prend un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurin. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \dots + \sum a_{ii} x_i^2 + a_{ij\dots z} x_i x_j \dots x_z$$

- $y$  est la réponse ou la grandeur d'intérêt.
- $x_i$  représente le niveau attribué au facteur  $i$  par l'expérimentateur pour réaliser un essai. Cette valeur est parfaitement connue.
- $a_0, a_i, a_{ij}, a_{ii}$  sont les coefficients du modèle mathématique adopté a priori. Ils ne sont pas connus et doivent être calculés à partir des résultats des expériences.

L'intérêt de modéliser la réponse par un polynôme est de pouvoir calculer ensuite toutes les réponses du domaine d'étude sans être obligé de faire les expériences. Ce modèle est appelé "*modèle postulé*" ou "*modèle a priori*" (Goupy, 2006).

*Chapitre II*  
*Matériel et méthodes*

## II Matériel et méthodes

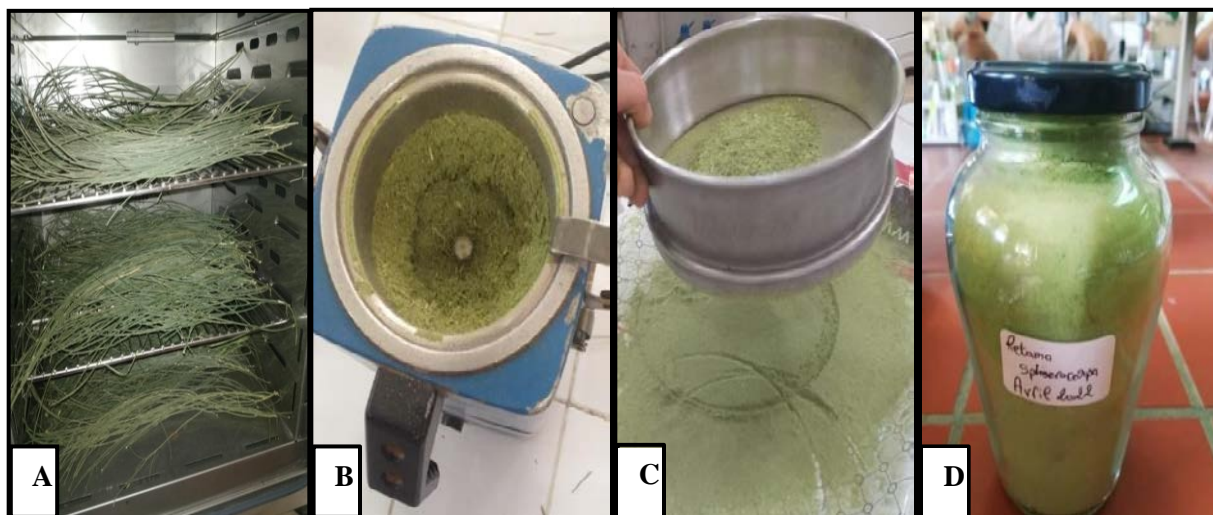
### II.1 Matériel

#### II.1.1 Matériel végétal

##### Récolte, séchage, broyage et tamisage

Le présent travail a été réalisé sur la partie aérienne de *Retama sphaerocarpa*. La plante a été récoltée au mois d'Avril 2022 dans la région de « Tala Anan – Ait Smail », wilaya de Bejaia où elle se développe d'une manière spontanée. Après la récolte, la partie aérienne a été soigneusement nettoyée, puis coupée et étalée à l'air libre à température ambiante et à l'abri de la lumière pour séchage pendant 6 jours. Elle a été ensuite placée dans une étuve à 40°C pendant 3 jours pour affiner le séchage et obtenir un meilleur broyage.

Les tiges totalement séchées ont été broyées à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre fine. Cette dernière a été ensuite tamisée à l'aide d'un tamis de 250 µm de diamètre pour obtenir une poudre homogène. La poudre obtenue a été conservée dans un bocal en verre à l'abri de la lumière pour éviter toute détérioration de l'échantillon et pour la réalisation des extractions.



**Figure 5 :** Les différentes étapes de la préparation du matériel végétal : (A) Partie aérienne de *Retama sphaerocarpa* placées dans l'étuve pour séchage ; (B) Broyage ; (C) Tamisage ; (D) Poudre conservée dans un bocal en verre.

## II.1.2 Produits chimiques et dispositifs expérimentaux

- L'étalon polyphénolique acide gallique,
- Le réactif de Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ).
- Les solvants : Méthanol, Ethanol, Acétone, Eau distillé,
- Etuve ventilée
- Balance électrique
- Plaque magnétique agitatrice
- Spectrophotomètre
- Broyeur électrique et un tamis
- Vortex
- Centrifugeuse
- Réfrigérateur
- Parafilm
- Papier aluminium
- Papier absorbant
- Micropipette
- Eppendorfs

## II.2 Méthodes

### II.2.1 Optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques

L'étape d'optimisation des paramètres d'extraction des composés phénolique à partir de la poudre de la partie aérienne de *R. sphaerocarpa* a été réalisée à l'aide d'une conception de Box-Behnken. Plusieurs facteurs qui pourraient potentiellement influencer et affecter l'efficacité de l'extraction ont été choisis, à savoir ; la polarité, le temps d'extraction et la vitesse d'agitation. Autres paramètres impliqués dans l'extraction ont été maintenus constants, à savoir la quantité de la matière sèche par rapport au solvant (ratio) et le type de solvant. L'extraction a été réalisée selon la technique d'extraction par macération, des quantités de 0.5 g de poudre ont été pesées et ajoutées à 10 ml du solvant d'extraction.

## **II.2.2 Tests préliminaires**

### **II.2.2.1 Choix du solvant d'extraction**

Quatre systèmes de solvants ont été choisis : acétone, éthanol, méthanol et eau distillé. Les extraits ont été préparés en ajoutant 10 ml du solvant d'extraction à 0.5 g de poudre végétale. Le mélange a été laissé sous agitation à l'abri de la lumière pendant 24 heures. L'extrait a été récupéré et a été ensuite centrifugé avec une centrifugeuse à une vitesse de 3000 rpm pendant 8 min. les composés phénoliques ont été ensuite dosés par la méthode au Folin-Ciocalteu en utilisant une courbe standard préparées avec l'acide galliques. Les résultats sont exprimés en milligramme équivalent acides gallique par gramme de la matière sèche (mg EAG/g MS) (*Bourgou et al., 2016*).

### **II.2.2.2 Choix de la polarité du solvant d'extraction**

Une fois le meilleur solvant a été choisi, l'étude de l'effet de la polarité du solvant d'extraction a été analysée. Pour cela l'extraction a été faite à différentes polarités (20%, 40%, 60%, 80%). Les 4 mélanges ont été laissés sous agitation pendant 24 h sur une plaque agitatrice. L'extrait a été récupéré et a été ensuite centrifugé comme précédemment. Les composés phénoliques exprimés en mg EAG/g MS ont été dosés comme cité ci-dessus.

### **II.2.2.3 Choix du temps d'extraction**

Après avoir déterminé la meilleure polarité d'extraction, la détermination du meilleur temps d'extraction a été faite à différentes durées (8h, 16h, 24h, 32h), les quatre extractions ont été récupérés après achèvement de la durée de chacune et est ensuite centrifugés avec une centrifugeuse à une vitesse de 3000 rpm pendant 8 min. les composés phénoliques ont été dosés au Folin-Ciocalteu et exprimés en mg EAG/g MS.

### **II.2.2.4 Choix de la vitesse d'agitation**

Quatre différentes extractions ont été réalisées à différentes vitesses d'agitation (300 rpm, 500 rpm, 700 rpm, 900 rpm). Après 24 h les extraits ont été récupérés et centrifugés et les composés phénoliques déterminés en mg EAG/g MS par référence à la courbe standard.

### II.2.2.5 Choix du ratio

Des quantités de 0.25 g, 0.5 g, 0.75 g et 1 g ont été pesés puis mise dans 10 ml du solvant d'extraction. Les quatre échantillons sont laissés sous agitation pendant 24h sur une plaque agitatrice. L'extrait a été ensuite récupéré et centrifugé et les teneurs en polyphénols totaux ont été dosées et exprimé en mg EAG/g MS.

**Tableau III :** Conditions d'extraction utilisées dans les tests préliminaires

Type de solvant	Polarité (%)	Temps (h)	Vitesse	
			d'agitation (rpm)	Ratio (g/10 mL)
Méthanol	20	8	300	0.25
Ethanol	40	16	500	0.5
Acétone	60	24	700	0.75
Eau distillé	80	32	900	1

### II.2.3 Application du plan de Box-Behnken

La partie des essais préliminaires a été effectué pour déterminer les types des facteurs qui influencent sur la réponse d'intérêt, selon la méthode classique d'extraction en variant un paramètre et fixant les autres (Al-Farsi and Lee, 2008).

La deuxième étape est une conception de Box-Behnken avec 15 expériences et trois points centraux qui consistent à étudier la réponse d'intérêt (taux des composés phénoliques) en utilisant des variables sélectionnées lors des tests préliminaires. Chaque variable possède trois niveaux : bas, centré et haut (-1, 0, +1) (Tableau IV et V)

**Tableau IV :** Niveaux des variables choisies pour l'optimisation de l'extraction des polyphénols totaux par macération

Paramètres	Niveau bas (-1)	Niveau centré (0)	Niveau haut (+1)
<b>X1 : Polarité (%)</b>	30	40	50
<b>X2 : Temps (h)</b>	20	24	28
<b>X3 : Vitesse d'agitation (rpm)</b>	200	300	400

**Tableau V** : Matrice d'expérience donnée par le plan Box-Behnken appliquée à l'extraction des composés phénoliques de *R. sphearocarpa*

	Configuration	Polarité (%)	Temps (h)	Vitesse d'agitation (rpm)
1	0-+	40	20	400
2	-0+	30	24	400
3	+0-	50	24	200
4	000	40	24	300
5	-0-	30	24	200
6	000	40	24	300
7	-+0	30	28	300
8	0+-	40	28	200
9	++0	50	28	300
10	--0	30	20	300
11	000	40	24	300
12	+ -0	50	20	300
13	+0+	50	24	400
14	0--	40	20	200
15	0++	40	28	400

#### II.2.4 Dosage des composés phénoliques

Parmi les méthodes couramment utilisées pour déterminer les teneurs en composés phénoliques totaux, la méthode utilisant Folin-Ciocalteu. C'est est un dosage colorimétrique qui implique des réactions d'oxydoréduction dans lesquelles les composés phosphotungstiques – phosphomolybdiques du réactif de Folin-Ciocalteu sont réduits en mélange d'oxydes bleu de tungstène ( $W_8O_{23}$ ) et de molybdène ( $Mo_8O_{23}$ ), formant ainsi un complexe bleu. Ce dosage n'est pas spécifique de groupes particuliers de composés phénoliques, mais servent plutôt à quantifier la concentration totale d'hydroxyles phénoliques (Schofield et al., 2001).



Une prise d'essai de 125 µl de l'extrait a été mélangée avec 625 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois dans de l'eau distillé). Le mélange a été vigoureusement vortexé. Après 5 min, 500 µl d'une solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) à 7.5 % a été additionnée. Le mélange obtenu a été bien agité à l'aide d'un vortex. Après une incubation de 90 min à l'obscurité et à température ambiante, la lecture de l'absorbance a été mesurée à une longueur d'onde de 740 nm par un spectrophotomètre. Les teneurs en polyphénols totaux ont été déterminées à partir d'une gamme étalon qui a été préparée avec de l'acide gallique à des concentrations connues. Les teneurs en polyphénols ont été exprimées en mg équivalent d'acide gallique par gramme de matière sèche (mg EAG/g MS) (Bourgou *et al.*, 2016; Mahmoudi *et al.*, 2013; Rahman *et al.*, 2010).

### **II.2.5 Analyses statistiques**

Les dosages ont été réalisés en triple et résultats ont été exprimés en moyenne ± l'écart-type. Pour les tests préliminaires, les résultats ont été traités par GraphPad Prism 6 et l'analyse statistique a été réalisés par ANOVA *One way*, suivi par le test post-hoc de Tukey's. Les résultats du plan Box-Behnken ont été traités avec le logiciel JMP Pro 14. Le degré de signification des données a été pris à la probabilité de  $p < 0,05$ .

*Chapitre III*  
*Résultats et discussion*



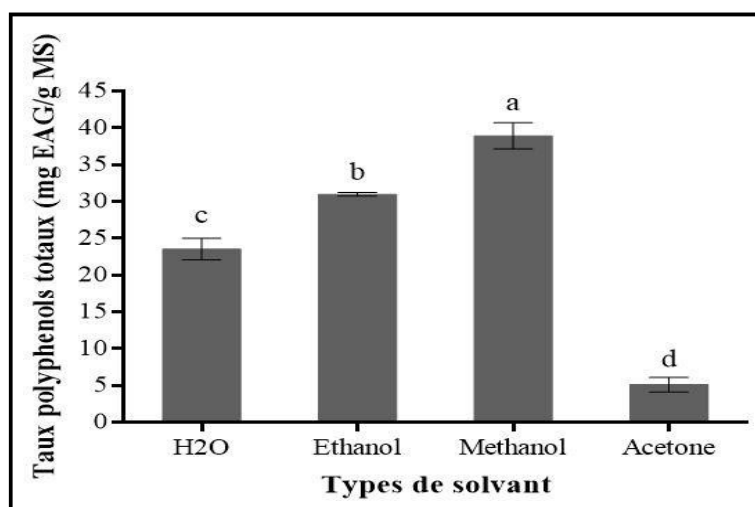
### III Résultats et discussion

#### III.1 Effet des paramètres sur l'extraction des composés phénoliques

Les essais préliminaires ont été réalisés afin d'évaluer l'effet des différents facteurs (type de solvants, polarité, temps d'extraction, vitesse d'agitation et ratio) sur l'extraction des composés phénoliques de *R.sphaerocarpa* en utilisant RSM comme technique d'optimisation.

##### III.1.1 Effet du solvant

Le choix du solvant utilisé pour l'extraction est une étape particulièrement importante pour obtenir un résultat optimal pour la concentration des composés phénoliques dans l'extrait (Zhang et al., 2022). L'effet du solvant a été étudié en utilisant 4 solvants différents ; eau distillée, éthanol, méthanol et acétone. Les résultats obtenus de l'effet de la nature du solvant sur la teneur en polyphénols totaux extraits de *R. sphaerocarpa* sont représentés dans la figure 6.



**Figure 6 :** Effet de la nature du solvant sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de *R. sphaerocarpa*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA One Way, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P \leq 0.05$ .

Les résultats de l'étude statistique montrent une différence significative entre les teneurs des polyphénols totaux extraits par les 04 solvants. Ces teneurs varient de  $5.11 \pm 0.99$  à  $38.91 \pm 1.78$  mg EAG/g de MS. Le meilleur taux des polyphénols totaux a été enregistré avec le méthanol qui a montré une meilleure efficacité d'extraction par rapport aux trois autres solvants utilisés.

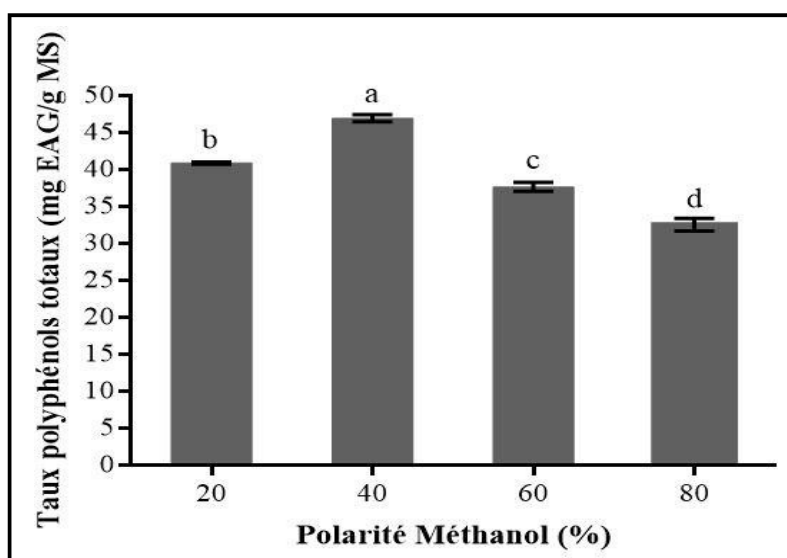
Les travaux de **Mau et al., (2005)** ont rapporté que les rendements élevés obtenus avec le méthanol peuvent être dus à la solubilité de la plupart des composés dans ce solvant. Ce qui est en accord avec d'autres auteurs **Telli et al., (2010)**, qui ont trouvé que le méthanol est le solvant idéal pour l'extraction optimale des polyphénols totaux. En effet, les solvants donnant la teneur la plus élevée en phénols totaux sont le méthanol et l'éthanol (**Li et al., 2006**).

Les caractéristiques chimiques du solvant et la diversité de la structure et de la composition des produits naturels garantissent que chaque système matériau-solvant présente un comportement différent, qui ne peut être prédit (**Al-Farsi and Lee, 2008**).

La nature du solvant est très importante pour pouvoir extraire les molécules d'intérêt et, si possible, de façon sélective. Le solvant doit avoir une affinité importante pour les molécules ciblées et possède une grande capacité de dissolution (**Marinova and Yanishlieva, 1997**).

### III.1.2 Effet de la polarité

En prenant le méthanol comme meilleur solvant d'extraction, il est aussi important de déterminer sa concentration idéale. Donc plusieurs extractions ont été réalisées dans les mêmes conditions en variant la concentration du méthanol. L'effet de la polarité a été étudié à 20, 40, 60 et 80%.



**Figure 7** : Effet de la concentration du méthanol sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de *R. sphaerocarpa*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA One Way, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P \leq 0.05$ .

Les résultats de l'étude statistique montrent une différence significative entre les teneurs extraites par le méthanol à différentes polarités qui varie de  $32.53 \pm 0.85$  à  $46.94 \pm 0.47$  mg EAG/ g MS.

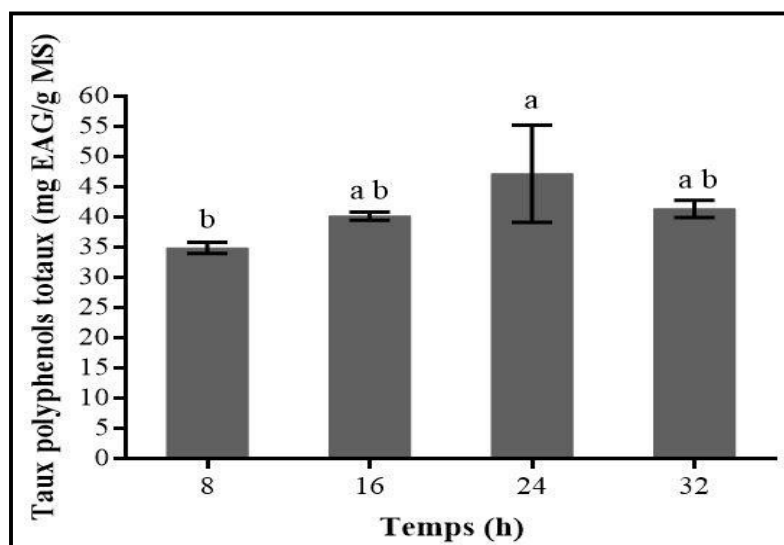
La teneur en polyphénols totaux augmente avec l'augmentation de la concentration en méthanol, jusqu'à ce que la concentration atteigne 40 %, Au-dessus de 40% la récupération des polyphénols totaux est réduite avec l'augmentation de la concentration de méthanol. La teneur la plus faible est enregistrée pour le méthanol 80%. Il a été révélé qu'un mélange de solvants et d'eau est plus efficace que le système mono-solvant dans l'extraction phénolique (Spigno et al., 2007).

Les composés phénoliques les plus polaires (par exemple, les acides benzoïque et cinnamique, ou les flavonoïdes hautement glycosylés) ne peuvent pas être complètement extraits avec des solvants organiques purs, c'est pourquoi des mélanges avec de l'eau sont assez généralement utilisés (Santos-Buelga et al., 2012).

La solubilité des composés phénoliques est régie par la polarité du solvant utilisé (Nacz and Shahidi, 2004), ce paramètre influence considérablement la teneur de polyphénols totaux extrait.

### III.1.3 Effet du temps d'extraction

Afin de déterminer l'effet du temps d'extraction sur les teneurs des composés phénoliques, le solvant utilisé et la polarité ont été maintenu constant à l'utilisation de méthanol comme solvant à une polarité de 40%. Des extractions ont été ensuite réalisées à des temps variable allant de 8, 16, 24 et 32 heures. Les résultats sont illustrés dans la **figure 8**.



**Figure 8** : Effet du temps d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de *R. sphaerocarpa*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA One Way, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P \leq 0.05$ .

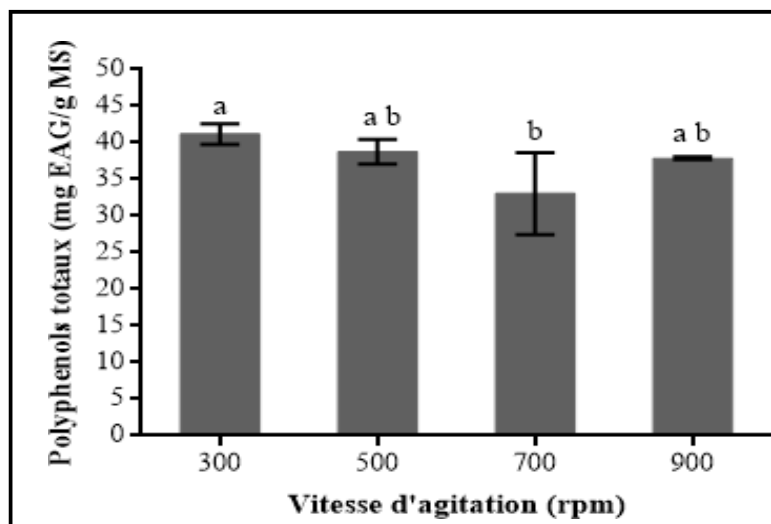
La **figure 8** montre que la teneur la plus élevée en CPT ( $47,18 \pm 8.05$  mg EAG/g MS) a été enregistrée pour le temps de macération de 24 h, tandis que la plus faible ( $34.88 \pm 0.92$  mg EAG/g MS) a été enregistrée pour le temps de 8 h. En outre, le contenu en polyphénols totaux augmente en allant d'un temps de macération de 8 h à 24 h après 24 h d'extractions et au-delà, nous constatons une légère diminution.

Le temps pendant lequel le solvant et le matériel végétal sont mis en contact peut influencer la libération progressive de solutés à partir de la matrice végétale vers le solvant, et donc cela influence l'efficacité de l'extraction (**Michiels et al., 2012**).

Un temps de contact prolongé n'améliore pas toujours l'efficacité de l'extraction, en effet, il peut également favoriser l'oxydation des composés phénoliques (**Santos-Buelga et al., 2012**). L'augmentation du temps d'extraction augmente potentiellement la perte de composés phénoliques par oxydation (**Al-Farsi and Lee, 2008**). Par conséquent, le temps d'extraction de 24 h a été sélectionné comme temps optimal pour l'extraction des composés phénoliques de *R. sphaerocarpa*.

### III.1.4 vitesse d'agitation

Quatre extractions ont été réalisées avec différentes vitesses d'agitation variante de 300 à 900 rpm pour déterminer l'effet de la vitesse d'agitation sur l'extraction des composés phénoliques en maintenant les autres facteurs fixes ; le solvant est le méthanol à une polarité de 40 % et à une durée d'extraction de 24 h.



**Figure 9** : Effet de la vitesse d'agitation sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de *R. sphaerocarpa*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA One Way, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considéré significatifs à  $P \leq 0.05$ .

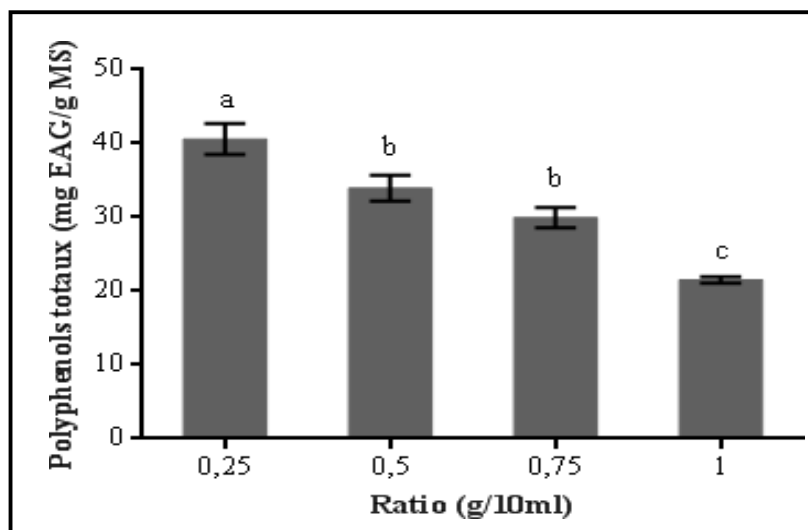
Les résultats de la **figure 9** montrent que l'extraction des polyphénols totaux a atteint une quantité maximale de  $41.19 \pm 1.43$  mg EAG/ g MS à une vitesse d'agitation de 300 rpm. Au-dessus de 300 rpm, les rendements totaux en polyphénols diminuent. Ceci pourrait être dû à la perte par évaporation du solvant organique à des vitesses d'agitation plus élevée, ce qui conduit à la diminution de l'efficacité d'extraction des composés phénoliques (**Luo et al., 2016**).

L'agitation mécanique des particules dans le solvant permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu. Elle a un effet toujours favorable sur l'opération, car elle permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide-liquide et d'augmenter le coefficient de transfert. Si l'agitation est très intense et/ou maintenue durant une longue période, elle peut favoriser des chocs entre les différentes particules et permettre ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu (**Dibert et al., 1989**).



### III.1.5 Ratio

En maintenant les conditions d'extraction précédentes (méthanol comme solvant, 40 % de polarité, 24h temps d'extraction, 300 rpm) une autre extraction est réalisée pour évaluer l'effet du ratio sur l'extraction des polyphénols totaux en variant la quantité de la matière sèche végétale utilisée de 0.25 à 1 g/10ml de solvant.



**Figure 10:** Effet du ratio sur la teneur en polyphénols totaux des extraits de *R. sphaerocarpa*. Les résultats ne partageant pas la même lettre sont statistiquement significatifs. Les données sont exprimées en moyenne  $\pm$  écart type (n=3). L'analyse des données a été réalisée par le test ANOVA One Way, suivi du test post hoc de Tukey's. Les résultats sont considérés significatifs à  $P \leq 0.05$ .

Les teneurs en composés phénoliques diminuent avec l'augmentation du ratio (quantité de la matière sèche utilisée). Dans ce travail, la teneur des polyphénols totaux extraits la plus élevée ( $40.61 \pm 2.11$  mg EAG/ g MS) était observée lors de l'extraction avec la plus petite quantité de matière sèche (0,25 g/10 ml de solvant). Cette teneur diminue ensuite au fur et à mesure que le ratio augmente et atteint un taux de  $21.52 \pm 0.44$  mg EAG/ g MS à un ratio de 1g/10 ml de solvant. Le ratio a donc une influence linéaire sur le taux d'extraction des polyphénols totaux.

En conclusion, les résultats des tests préliminaires suggèrent une extraction dont les conditions sont : le méthanol à une polarité de 40%, un temps d'extraction de 24 heures et une vitesse d'agitation de 300 rpm.

## III.2 Le plan d'expérience Box-Behnken

### III.2.1 Analyse des résultats

Selon l'analyse présentée ci-dessus, il peut être déduit que la concentration en méthanol, le temps d'extraction et la vitesse d'agitation affectent l'efficacité et le rendement de l'extraction des polyphénols totaux. Bien que ces effets aient été traités séparément, il convient de noter que, dans le système elles interagissent. Le produit de l'interaction de ces variables se reflète dans le contenu phénolique des extraits obtenus.

Les effets de ces trois facteurs ainsi que leurs interactions sur les teneurs en polyphénols totaux ont été étudiés par le plan de Box-Behnken. Quinze extractions ont été réalisées et les 03 facteurs étudiés ainsi que leurs 03 niveaux sont les suivants :

- ✓ **Facteur 1 (X1)** : Polarité (30, 40 et 50%)
- ✓ **Facteur 2 (X2)** : Temps d'extraction (20, 24 et 28 h)
- ✓ **Facteur 3 (X3)** : Vitesse d'agitation (200, 300 et 400 rpm)

Les résultats des teneurs des composés phénoliques totaux des expériences réalisées par le plan Box-Behnken (BBD) à un ratio de 0.5 g de la poudre de *R. sphaerocarpa* dans 10 ml de solvant sont représentés dans le (**tableau VI**).

D'après les résultats obtenus par le BBD, le taux des polyphénols totaux varie entre  $28,54 \pm 0.74$  mg EAG/ g MS (expérience N° 8) et  $53,60 \pm 0.99$  mg EAG/ g MS (expérience N°15), ce qui montre l'influence des paramètres étudiés qui sont la polarité, le temps d'extraction et la vitesse d'agitation sur le taux d'extraction des CPT.

Les résultats de l'analyse effectuée révèlent que les valeurs des taux des polyphénols totaux prédites par le BBD sont très proches des valeurs réelles dosées à partir de la courbe d'étalonnage. Cela illustre le degré élevé d'ajustement du model de régression.

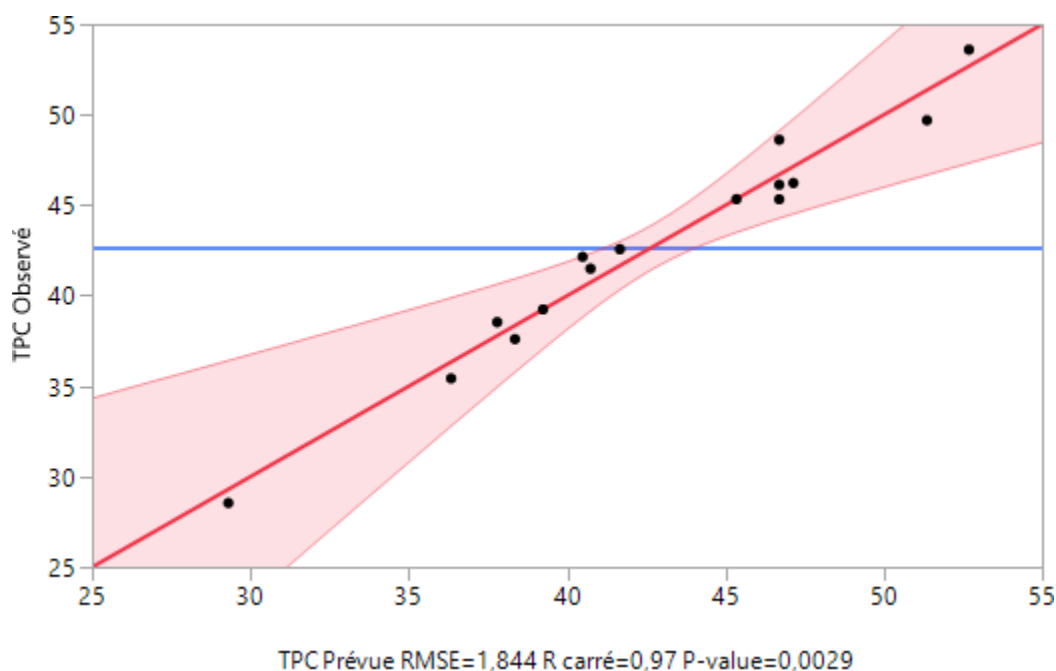
**Tableau VI** : Plan et résultats d'optimisation des conditions d'extraction par le plan central composite précis pour les extraits de *R.sphaerocarpa* obtenus par macération.

	Configuration	Polarité (%)	Temps (h)	Vitesse d'agitation (rpm)	Valeurs réelles CPT (mg EAG/ g MS)	Valeurs prédites CPT (mg EAG/g MS)
1	0-+	40	20	400	41,494	40,738
2	-0+	30	24	400	45,339	45,345
3	+0-	50	24	200	39,243	39,237
4	000	40	24	300	48,621	46,695
5	-0-	30	24	200	42,150	40,487
6	000	40	24	300	46,136	46,695
7	--0	30	28	300	35,428	36,335
8	0+-	40	28	200	28,545	29,301
9	++0	50	28	300	38,540	37,790
10	--0	30	20	300	37,602	38,352
11	000	40	24	300	45,330	46,695
12	+0-	50	20	300	42,572	41,665
13	+0+	50	24	400	49,699	51,363
14	0--	40	20	200	46,230	47,143
15	0++	40	28	400	53,602	52,689

### III.2.2 Coefficient de corrélation

Le  $R^2$  est une mesure de la qualité du modèle. S'il est égal à 1, le modèle permet de retrouver la valeur des réponses mesurées. S'il est égal à 0, le modèle n'en dit pas plus que la moyenne des réponses (**Goupy and Creighton, 2013**). Dans la présente étude, le coefficient de corrélation ( $R^2$ ) du modèle est égal à 0,97 (**Figure 11**) ce qui signifie que 3% 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. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajustée est élevée ( $R^2$  ajusté = 0,91), ce qui confirme la haute significativité du modèle.



**Figure 11** : Graphiques des valeurs observées en fonction des valeurs prévues

L'analyse de la variance (ANOVA) montre que le modèle est significatif,  $P \leq 0.05$  ( $P$ -value = 0.0029). La somme des carrés et des écarts du modèle (534.313) est supérieure à celle de la somme des carrés et des écarts de l'erreur (17.001), ce qui confirme que le modèle est satisfaisant.

### III.2.3 Estimation des coefficients

Les coefficients de régression et la surface de réponse ont été utilisés pour étudier les impacts des variables ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) sur l'extraction des composés phénoliques totaux (**Uma et al., 2010**).

Dans l'analyse des coefficients de régression, les  $P$ -value ont été utilisées comme outil pour vérifier la significativité de chaque coefficient, qui indique la force d'interaction de chaque paramètre. Les plus petites  $P$ -value présentent la plus grande signification du facteur correspondant (**George, 2010**).

Les Coefficients de régression du second ordre prédit les modèles polynomiaux pour TPC sont présentés dans le (**tableau VII**).

**Tableau VII:** Estimation des coefficients de régression du modèle polynomial de deuxième degré.

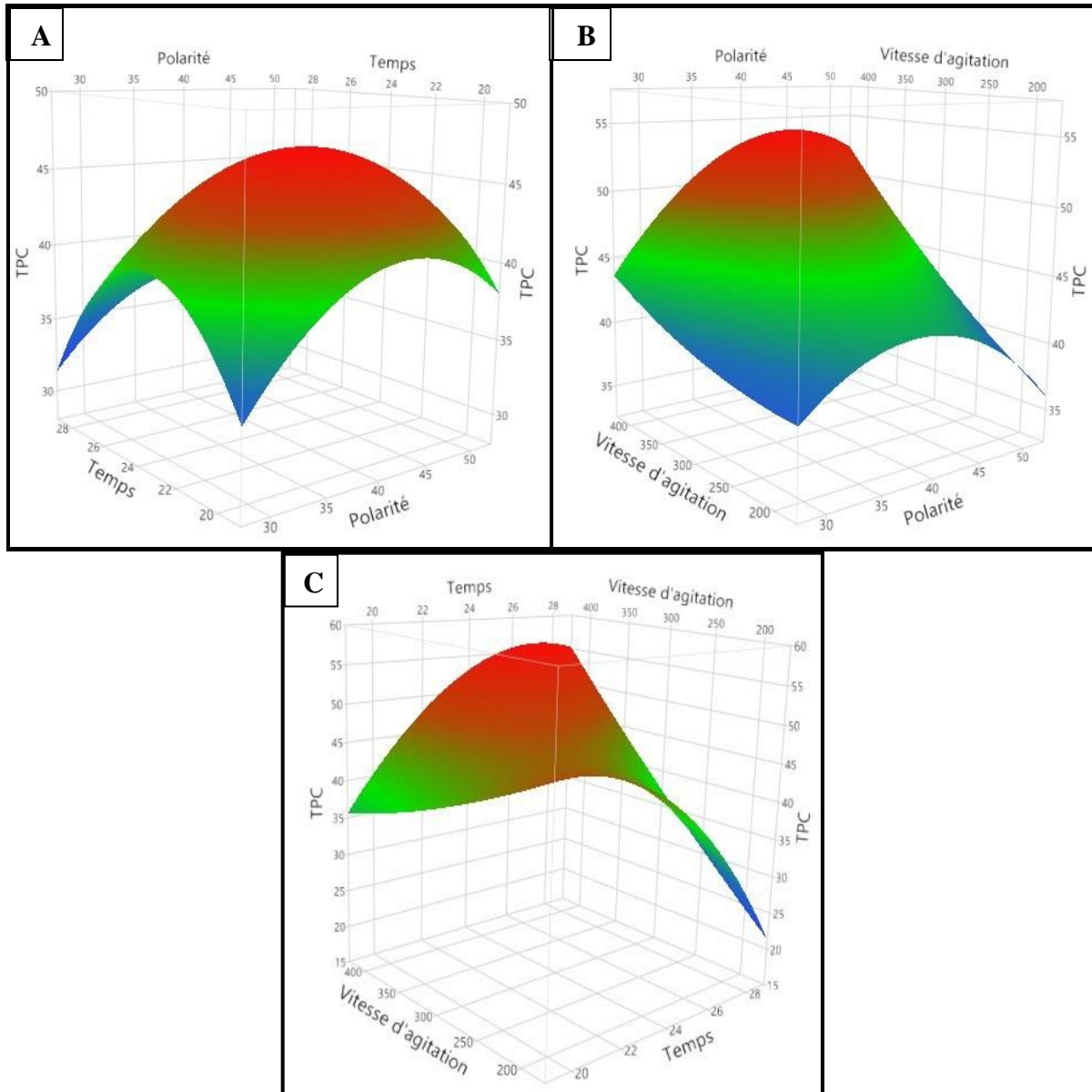
Terme	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. >  t
<b>Constante</b>	46,695971	1,064635	43,86	<,0001*
<b>Linéarité</b>				
X1- Polarité (%)	1,1919414	0,651953	1,83	0,1271
X2- Temps (h)	-1,472894	0,651953	-2,26	0,0734
X3- Vitesse d'agitation (rpm)	4,2457875	0,651953	6,51	0,0013*
<b>Interaction</b>				
X1*X2	-0,464469	0,922001	-0,50	0,6358
X1*X3	1,8168498	0,922001	1,97	0,1058
X2*X3	7,4483516	0,922001	8,08	0,0005*
<b>Quadratique</b>				
X1*X1	-3,259707	0,959649	-3,40	0,0193*
X2*X2	-4,9	0,959649	-5,11	0,0038*
X3*X3	0,6721612	0,959649	0,70	0,5149

### III.2.3.1 Effet linéaire

Les résultats de la présente étude, montre que le facteur qui possède une influence hautement significative sur l'extraction des polyphénols totaux de la poudre de *R. sphaerocarpa* étudiée est la vitesse d'agitation (X3) avec une probabilité de  $P= 0,0013$ , cependant l'impact est non significatif pour le facteur (X1) et (X2) à savoir la polarité et le temps d'extraction.

### III.2.3.2 Effet d'interaction

Les résultats obtenus indiquent que l'interaction temps-vitesse d'agitation (X2-X3) est significative sur l'extraction des polyphénols avec une probabilité  $P=0,0005$  (Tableau VII) Et que les interactions concentration polarité-temps (X1-X2) et polarité-vitesse d'agitation (X1-X3) sont non significatifs avec des P-value de 0,63 et 0,10 respectivement.



**Figure 12:** Graphiques des surfaces de réponse montrant pour les interactions des trois facteurs. (A) Polarité – Temps d'extraction (X1-X2) ; (B) Polarité - Vitesse d'agitation (X1-X3) ; (C) Temps d'extraction – Vitesse d'agitation (X2-X3).

### III.2.3.3 Effet quadratique

Les résultats de la présente étude (**Tableau VII**), indique que l'effet quadratique ( $X_2 \times X_2$ ) (temps-temps) est hautement significatif sur la teneur en polyphénols totaux extraite de la poudre de *R. sphaerocarpa* avec une probabilité de  $P=0,0038$ , l'effet quadratique ( $X_1 \times X_1$ ) (polarité-polarité) est aussi significatif avec une probabilité de 0,0193. Cependant, l'effet quadratique ( $X_3 \times X_3$ ) (vitesse d'agitation-vitesse d'agitation) n'est pas significatif avec une probabilité de 0,5149.

En conclusion, l'ensemble des résultats des effets exercés par les facteurs considérés montrent que la vitesse d'agitation est un facteur très significatif, ainsi que le temps d'extraction.

### III.2.4 Modèle mathématique

Une fois les facteurs clairement identifiés et la réponse connue, on peut proposer un plan d'expérience, c'est-à-dire une liste d'expériences à réaliser afin de cerner au mieux le phénomène étudié. Dans l'absolu, le choix d'un plan d'expérience n'a pas de sens tant qu'il n'est pas subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Les modèles les plus classiques sont les modèles polynomiaux (le plus souvent de degré inférieur ou égal à deux) (*Tinsson, 2010*). L'étude d'optimisation réalisée a donné l'équation polynomiale finale en terme des facteurs codés et en éliminant les termes non significatifs.

$$Y = 46.6959 + 4.2457 X_3 + 7.4483 X_2 X_3 - 3.2599 X_1^2 - 4.9 X_2^2$$

### III.2.5 Solution

Pour vérifier la validité du modèle, une extraction a été réalisée selon les conditions optimales donnée par le logiciel JMP 14 pour comparer la valeur prédite avec la valeur expérimentale obtenue (**Tableau VIII**).

**Tableau VIII:** Conditions optimales d'extraction des polyphénols totaux à partir de la poudre des tiges de *R. sphaerocarpa*.

Variables	Valeur critique
Polarité (%) (30-50)	40,894376
Temps (h) (20-28)	21,968294
Vitesse d'agitation (rpm) (200-400)	253,5032
Valeurs prédites CPT (mg EAG/ g MS)	46,136256
Valeurs expérimentales TPC (mg EAG/ g MS)	46,879120

Les conditions optimales d'extraction des polyphénols totaux de *R. sphaerocarpa* obtenues par la présente étude étaient comme suit : une polarité de méthanol de 40.89 %, un temps d'extraction de 21.96 h et une vitesse d'agitation de 253.5 rpm. Le modèle a prévue une réponse de 46.13 (mg EAG/ g MS) alors que la valeur expérimentale obtenue était de  $46.87 \pm 1.51$  (mg EAG/ g MS).

La teneur expérimentale est très élevée comparée aux résultats obtenues par des extractions méthanolique des composé phénolique de *R. sphaerocarpa* réalisées par **Boussahel, (2018)** qui a trouvée ( $15.79 \pm 1.23$ mg EAG/g) et **Hasna and Nihad, (2021)** qui ont trouvées une teneur de ( $202,26 \pm 2,55$  µg EAG/mg ES). Ces résultats confirment l'intérêt de l'optimisation dans l'efficacité d'extraction des composés phénoliques.



# *Conclusion*

### Conclusion

La présente étude a été réalisée afin d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques par macération des tiges de *R.sphaerocarpa*, en utilisant la méthode de surface de réponse.

Cinq tests préliminaires ont été réalisés pour optimiser les facteurs qui seront étudiés dans la méthode de surface de réponse. Le premier test a montré que c'est le méthanol qui a donné le taux de CPT le plus élevé par rapport aux autres solvants (eau distillée, éthanol et acétone). Le deuxième test a révélé que la concentration optimale du méthanol était de 40%. Les troisièmes et quatrièmes tests ont démontré respectivement que le meilleur temps d'extraction était de 24 h et que la vitesse d'agitation optimale était de 300 rpm. Enfin, le cinquième test a montré que le ratio avait un effet linéaire sur la teneur des CPT.

La méthodologie de la surface de réponse a été mise à profit afin d'optimiser les paramètres d'extraction des CPT à partir de *R. sphaerocarpa* en testant trois facteurs, à savoir, la polarité du solvant, le temps d'extraction et la vitesse d'agitation. Le model de Box-Behnken indique que la vitesse d'agitation, l'interaction entre le temps d'extraction et la vitesse d'agitation ainsi que les interactions polarité-polarité et temps d'extraction-temps d'extraction sont les facteurs significatifs qui influencent le taux des CPT avec des  $P < 0,05$ .

Les conditions expérimentales optimales données par le model Box-Behnken qui permettent d'avoir le maximum des CPT sont les suivantes : une polarité du méthanol de 40.89%, un temps d'extraction de 21.96 h et une vitesse d'agitation de 253.5 rpm.

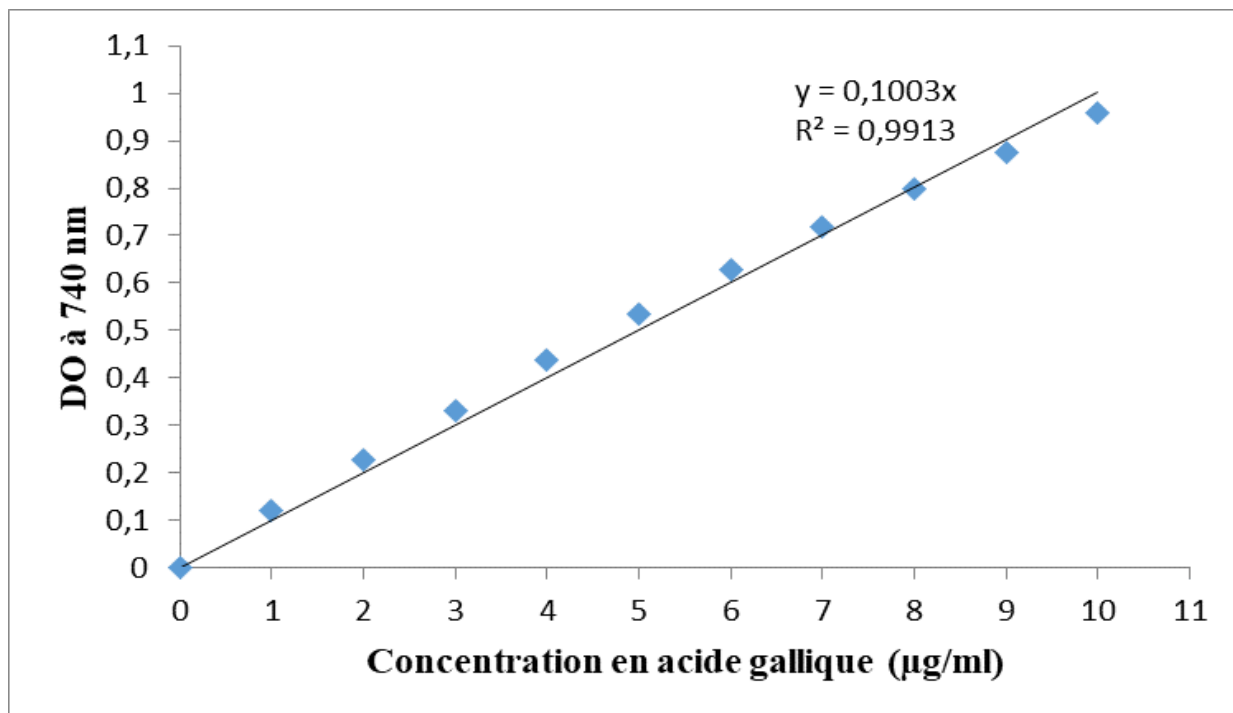
Le taux des CPT dans ces conditions expérimentales optimales était de l'ordre de 46.87 mg EAG/g MS, qui est très proche de la valeur prédite par le model et qui est de 46.13mg EAG/g MS.

Enfin, le résultat total obtenu au cours de cette étude est ouvert à des perspectives autour de la plante de *Retama sphaerocarpa* et pour mener des études pratiques qui serviront de tests complémentaires pour confirmer des activités spéciales pour cette plante pour devenir utilisé dans la fabrication de médecine locale dans l'Algérie.

En perspective, il serait important aussi d'approfondir les recherches sur l'implication des composés phénoliques dans les activités biologiques de *R. sphaerocarpa*.

# *Annexes*

**Annexe 01** : La courbe d'étalonnage utilisé pour le dosage des composés phénoliques totaux en utilisant l'étalon polyphénolique acide gallique.



# *Références bibliographiques*

## Références bibliographiques

-A-

**Al-Farsi, M.A., Lee, C.Y.**, 2008. Optimization of phenolics and dietary fibre extraction from date seeds. *Food chemistry* 108(3), 977-985.

**Al Mamari, H.H.**, 2021. Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis, Phenolic Compounds-Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications. IntechOpen.

**Alami, S., Lamin, H., Bennis, M., Bouhnik, O., Lamrabet, M., El Hachimi, M.L., Abdelmoumen, H., Bedmar, E.J., El Idrissi, M.M.**, 2021. Characterization of *Retama sphaerocarpa* microsymbionts in Zaida lead mine tailings in the Moroccan middle Atlas. *Systematic and Applied Microbiology* 44(3), 126207.

**Alberti, A., Zielinski, A.A.F., Zardo, D.M., Demiate, I.M., Nogueira, A., Mafra, L.I.**, 2014. Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology. *Food chemistry* 149, 151-158.

-B-

**Benaissa, A., Cherfia, R., Canabady-Rochelle, L., Perrin, D., Chaimbault, P., Joubert, O., Gaucher, C., Bouhelassa, M., Chaouche, N.K.**, 2016. Etude des Capacités Antioxydantes et Antimicrobiennes de la Plante *Retama sphaerocarpa*, Conférence Adebitech. Modulation du stress oxydant: nouveaux concepts pour de nouvelles applications.

**Berk, Z.**, 2018. Food process engineering and technology. Academic press.

**Boizot, N., Charpentier, J.-P.**, 2006. Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. *Cahier des Techniques de l'INRA*, 79-82.

**Bourgou, S., Beji, R.S., Medini, F., Ksouri, R.**, 2016. Effet du solvant et de la méthode d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydantes d'*Euphorbia helioscopia*. *Journal of New Sciences* 28.

**Boussahel, S.**, 2018. Étude biochimique et histologique de l'effet de quelques extraits des plantes toxiques dans la région de Sétif. Mémoire de Magister, Université Ferhat Abbas, Sétif.

-D-

**Dibert, K., Cros, E., Andrieu, J.**, 1989. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee part I: Equilibrium data. *Journal of food engineering* 10(1), 1-11.

**Domingo, F., Sánchez, G., Moro, M., Brenner, A., Puigdefábregas, J.**, 1998. Measurement and modelling of rainfall interception by three semi-arid canopies. *Agricultural and forest meteorology* 91(3-4), 275-292.

**-E-**

**El-Shazly, A., Ateya, A.-M., Witte, L., Wink, M.,** 1996. Quinolizidine alkaloid profiles of *Retama raetam*, *R. sphaerocarpa* and *R. monosperma*. *Zeitschrift für Naturforschung C* 51(5-6), 301-308.

**-F-**

**Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S.,** 2015. Optimisation des paramètres influençant l'hydrodistillation de *Rosmarinus officinalis* L. par la méthodologie de surface de réponse Optimization of parameters influencing the hydrodistillation of *Rosmarinus officinalis* L. by response surface methodology. *J. Mater. Environ. Sci* 6(8), 2346-2357.

**Faucher, J.,** 2006. Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue.

**Fdil, R., El Hamdani, N., El Kihel, A., Sraidi, K.,** 2012. Distribution des alcaloïdes dans les parties aériennes de *Retama monosperma* (L.) Boiss. du Maroc, *Annales de toxicologie analytique*. EDP Sciences, pp. 139-143.

**-G-**

**Gagui, A., Guelil, S.,** 2021. Etude phytochimique de la plante *Rétama sphaerocarpa* (L) Boiss et évaluation de son activité antibactérienne. Université Mohamed Boudiaf-M'sila.

**George, M.,** 2010. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of chlorogenic acid from *Folium eucommiae* and evaluation of its antioxidant activity. *Journal of Medicinal Plants Research* 4(23), 2503-2511.

**Goupy, J.,** 1999. Plans d'expériences pour surfaces de réponse.

**Goupy, J.,** 2006. Plans d'expériences. Ed. Techniques Ingénieur.

**Goupy, J., Creighton, L.,** 2013. Introduction aux plans d'expériences: avec applications. Paris.

**-H-**

**Hasna, K., Nihad, M.,** 2021. Etude phytochimique et évaluation des propriétés antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de *Globularia alypum* et *Retama sphaerocarpa*. Mémoire de Magister, Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.

**Hoareau, L., DaSilva, E.J.,** 1999. Medicinal plants: a re-emerging health aid. *Electronic Journal of biotechnology* 2(2), 3-4.

**-J-**

**Jahromi, S.G.,** 2019. Extraction techniques of phenolic compounds from plants. *Plant physiological aspects of phenolic compounds*, 1-18.

**Jean, B.**, 2009. Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales (4e éd.). Lavoisier.

**-K-**

**Kheloufi, A., Mansouri, L.M., Djelilate, M., Touka, M., Chater, A., Dekhinet, C.**, 2020. Nutritional Characteristics and Seed Germination Improvement of the Forage Shrub (*L.*) Boiss. *Contemporary Agriculture* 69(3-4), 53-60.

**Kim, J., Choi, K., Chung, D.**, 2012. Sample preparation for capillary electrophoretic applications.

**-L-**

**Lazaro, M.L., Martín-Cordero, C., Iglesias-Guerra, F., González, M.A.**, 1998. An isoflavone glucoside from *Retama sphaerocarpa* boissier. *Phytochemistry* 48(2), 401-402.

**Leybros, J., Frémeaux, P.**, 1990. Extraction solide-liquide: Techniques et appareillage. *Techniques de l'Ingénieur, Traité de Génie des Procédés J 2*, 782.

**Li, B., Smith, B., Hossain, M.M.**, 2006. Extraction of phenolics from citrus peels: I. Solvent extraction method. *Separation and Purification Technology* 48(2), 182-188.

**López-Lázaro, M., Martín-Cordero, C., Ayuso, M.J.**, 1999. Flavonoids of *Retama sphaerocarpa*. *Planta medica* 65(08), 777-778.

**Louaar, S., Akkal, S., Laouer, H., Guilet, D.**, 2007. Flavonoids of *Retama sphaerocarpa* leaves and their antimicrobial activities. *Chemistry of Natural Compounds* 43(5), 616-617.

**Luo, Z.Y., Liu, H.Y., Shi, Z.G.**, 2016. Novel mode of liquid-phase microextraction: A magnetic stirrer as the extractant phase holder. *Journal of separation science* 39(2), 399-404.

**-M-**

**Mahmoudi, S., Khali, M., Mahmoudi, N.**, 2013. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus* L.). *Nature & Technology*(9), 35.

**Maran, J.P., Manikandan, S., Priya, B., Gurumoorthi, P.**, 2015. Box-Behnken design based multi-response analysis and optimization of supercritical carbon dioxide extraction of bioactive flavonoid compounds from tea (*Camellia sinensis* L.) leaves. *Journal of Food Science and Technology* 52(1), 92-104.

**Marfak, A.**, 2003. Radiolyse gamma des flavonoïdes, Etude de leur réactivité avec les radicaux issus des alcools: formation de depsides. Mémoire, Université de Limoges, Limoges.



**Marinova, E., Yanishlieva, N.**, 1997. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. *Food Chemistry* 58(3), 245-248.

**Martín-Cordero, C., Lazaro, M.L., Gil-Serrano, A., Carvajal, M.R., González, M.A.**, 1999. Novel flavonol glycoside from *Retama sphaerocarpa* Boissier. *Phytochemistry* 51(8), 1129-1131.

**Martin, S., Andriantsitohaina, R.**, 2002. Mécanismes de la protection cardiaque et vasculaire des polyphénols au niveau de l'endothélium, *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. Elsevier, pp. 304-315.

**Mau, J.-L., Tsai, S.-Y., Tseng, Y.-H., Huang, S.-J.**, 2005. Antioxidant properties of methanolic extracts from *Ganoderma tsugae*. *Food chemistry* 93(4), 641-649.

**Michiels, J.A., Kevers, C., Pincemail, J., Defraigne, J.O., Dommès, J.**, 2012. Extraction conditions can greatly influence antioxidant capacity assays in plant food matrices. *Food Chemistry* 130(4), 986-993.

**-N-**

**Naczki, M., Shahidi, F.**, 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A* 1054(1-2), 95-111.

**-P-**

**Paris, R., Dillemann, G.**, 1960. Les plantes médicinales des régions arides. Collection: Recherches sur la zone aride—XIII, Deuxième partie: Les plantes des régions arides, concernées surtout du point de vue pharmacologique, 57-94.

**-Q-**

**Quézel, P., Santa, S.**, 1962. Nouvelle Flore De L'Algérie et des régions désertiques méridionales. vol.[1] CNRS. Paris, 1170 p.

**Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., Pouységou, L.**, 2011. Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition* 50(3), 586-621.

**-R-**

**Radia, B.-M.**, 2013. Diversité génétique et cytogénétique de trois espèces du genre *Retama* (Fabaceae) en Algérie. Université Mohamed Boudiaf des sciences et de la technologie.

**Rahman, A., Sikder, A., Kaiser, A., Hasan, C.M., Rashid, M.A.**, 2010. Total phenolics and antioxidant activity of *Swintonia floribunda* (Griff.). *Bangladesh Pharm. J* 13(2), 20-24.

**Rashid, S., Majeed, L.R., Nisar, B., Nisar, H., Bhat, A.A., Ganai, B.A., 2021.** Phytomedicines: Diversity, extraction, and conservation strategies, Phytomedicine. Elsevier, pp. 1-33.

**-S-**

**Santos-Buelga, C., Gonzalez-Manzano, S., Dueñas, M., Gonzalez-Paramas, A.M., 2012.** Extraction and isolation of phenolic compounds. Natural products isolation, 427-464.

**Schofield, P., Mbugua, D., Pell, A., 2001.** Analysis of condensed tannins: a review. Animal feed science and technology 91(1-2), 21-40.

**Spigno, G., Tramelli, L., De Faveri, D.M., 2007.** Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. Journal of food engineering 81(1), 200-208.

**-T-**

**Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O., Moulti-Mati, F., 2010.** Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L.) variété ghars. Annales des sciences et technologie 2(2), 107-114.

**Tinsson, W., 2010.** Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques. Springer Science & Business Media.

**-U-**

**Uma, D., Ho, C., Wan Aida, W., 2010.** Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) leaves. Sains Malaysiana 39(1), 119-128.

**-Z-**

**Zhang, Y., Cai, P., Cheng, G., Zhang, Y., 2022.** A brief review of phenolic compounds identified from plants: Their extraction, analysis, and biological activity. Natural product communications 17(1), 1934578X211069721.

## Résumé

La présente étude porte sur l'optimisation d'extraction par macération des polyphénols totaux des extraits des tiges de *R.sphaerocarpa*. Cinq tests préliminaires ont été réalisés pour optimiser les facteurs qui seront étudiés dans la méthode de surface de réponse. Le premier test a montré que le méthanol est le solvant idéal pour l'extraction des polyphénols totaux. Le deuxième test a révélé que la concentration optimale du méthanol était de 40%. Le troisième et quatrième tests ont démontré respectivement que le meilleur temps d'extraction était de 24 h et que la vitesse d'agitation optimale était de 300 rpm. Enfin, le cinquième test a montré que le ratio avait un effet linéaire sur la teneur des CPT. Quinze extractions ont été réalisées par le plan de Box Behnken qui consiste à évaluer l'effet des variables sélectionnés lors des tests préliminaire (polarité du solvant, temps d'extraction et vitesse d'agitation) sur l'efficacité d'extraction des composés phénoliques. Une extraction a été réalisée en respectant les conditions optimales données par le modèle. La valeur expérimentale (46.87 mg EAG/g MS) a été très proche de la valeur prédite (46.13 mg EAG/g MS) ce qui signifie que le modèle est très satisfaisant.

**Mots clés :** optimisation, composés phénoliques, Box Behnken, *R. sphaerocarpa*, RSM.

## Abstract

The present study deals with the optimization of extraction by maceration of total polyphenols from the extracts of the stems of *R. sphaerocarpa*. Five preliminary tests were carried out to optimize the factors that will be studied in the response surface method. The first test showed that methanol is the ideal solvent for the extraction of total polyphenols. The second test revealed that the optimal concentration of methanol was 40%. The third and fourth tests showed respectively that the best extraction time was 24 h and that the optimal stirring speed was 300 rpm. Finally, the fifth test showed that the ratio had a linear effect on the CPT content. Fifteen extractions were performed by the Box Behnken design, which consists in evaluating the effect of the variables selected during the preliminary tests (solvent polarity, extraction time and stirring speed) on the extraction efficiency of phenolic compounds. An extraction was performed under the optimal conditions given by the model. The experimental value (46.87 mg GAE/g DM) was very close to the predicted value (46.13 mg GAE/g DM) which means that the model is satisfactory.

**Key words:** optimization, phenolic compounds, box behnken, *R.sphaerocarpa*, RSM.

## ملخص

تركز هذه الدراسة على الاستفادة المثلى من الاستخلاص بالنقع من البوليفينول الكلي من سيقان *R.sphaerocarpa* تم إجراء خمسة اختبارات أولية لتحسين العوامل التي سيتم دراستها بطريقة سطح الاستجابة. أظهر الاختبار الأول أن الميثانول هو المذيب المثالي لاستخراج البوليفينول الكلي. أظهر الاختبار الثاني أن التركيز الأمثل للميثانول كان 40%. أظهر الاختبار الثالث والرابع على التوالي أن أفضل وقت للاستخراج البوليفينول الكلي كان 24 ساعة وأن سرعة التحريك المثلى كانت 300 دورة في الدقيقة. أخيرًا، أظهر الاختبار الخامس أن النسبة لها تأثير خطي على محتوى المركبات الفينولية الكلية. تم تنفيذ خمسة عشر عملية استخلاص بواسطة خطة بوكس بهينكن والتي تتكون من تقييم تأثير المتغيرات المختارة خلال الاختبارات الأولية (قطبية المذيب، ووقت الاستخراج وسرعة التحريك) على كفاءة استخلاص المركبات الفينولية. تم إجراء الاستخراج مع مراعاة الشروط المثلى التي قدمها النموذج. القيمة التجريبية (46.87) كانت قريبة جدًا من القيمة المتوقعة (46.13) مما يعني أن النموذج مرضٍ للغاية.

**الكلمات الرئيسية:** التحسين، المركبات الفينولية، *R.sphaerocarpa*، RSM، بوكس بهينكن.