

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



MÉMOIRE DE MASTER

En
Génie des Procédés
Option
Génie Alimentaire

Thème

**Détermination de la composition en oxydants et en minéraux
des extraits de quelques herbes aromatiques. Optimisation du
procédé d'extraction par les plans d'expériences.**

Présenté par :DahmaniFariale&Ouahbi Karima

Soutenu **le 06 juillet 2019** devant le jury composé de :

Présidente M^{me} F. Ouaghelis

Maître de conf. B

Examinatrice M^{me} H. BelkacemiProfesseur

Encadreur M^f A. Kachbi

Maître de conf. B

Co-Encadreur M^{me} O. SenhadjiProfesseur

Promotion 2018-2019

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements tout d'abord au bon Dieu le tout puissant de nous avoir accordé santé et courage pour accomplir ce travail.

Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promoteur **Mr A. Kachbi**, notre guide par excellence, qui a accepté de nous encadrer, aussibien pour ses conseils, sa disponibilité, son soutien, son aide, sonorientation et surtout pour sa patience, soyez assuré, monsieur, de notreestime et de notre profond respect.

Nous tenons à remercier **M^{me} Senhadji** qui nous a bénéficié de son savoir scientifique.

Notre sincère gratitude va aussi aux membres du jury à **M^{me} F. Ouaghli**, **M^{me} H. Belkacemi**, d'avoir accepté de juger ce présent travail.

Nous remercions également notre doctorant **M^f Arezoug Djoumad** pour ses conseil avisés, sa compréhension, sa patience et son aide précieux et toutel'équipe du laboratoire des procédés membranaires et des techniques de séparation et de récupération **LPMTSR**, madame **Mokhtari Fouzia**, ingénieur de laboratoire, et madame **Benamor Kahina**, technicienne de laboratoire qu'elles nous facilité la mise en œuvre.

Sans oublier à remercier nos enseignants qui ont assistés à notre formation et enfin pour tous ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre pour réaliser ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail A mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements, par leur énormes sacrifices, qu'ils m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé me voire réussir.

A mes chère frères Ilyas et Loucif qui mon toujours soutenus et toujours étaient présent avec moi.

A mes adorables sœurs : LILIANE, KATIA

A Ma chère amie et binôme Karima qui a partagé ce travail avec moi.

A toute ma famille et toutes mes amies.

Dahmaniferiel

Dédicaces

*A celle qui m'a porté d'un affaiblissement à un affaiblissement, à celle qui a été pour m'éclairer le chemin, à celle qui a été patiente durant toutes ces années et qui a tant sacrifié pour nous. **A toi ma chère maman.***

A vous très chères sœurs Fatima, Karima, Souad, Wazna

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments. Votre encouragement et votre soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me rassurée dans les moments pénibles. Merci d'être toujours à mes côtés.

*Je le dédie aussi à ma **grande famille** (Kamel, Samir, Sofiane, Dahbia, Nacira, Katia, Fahima, Hakima) vous avez été toujours là quand nous avions besoin de vous et sans vous ne serions pas devenus ce que nous sommes aujourd'hui.*

A vous mes très chères amies

Thiziri et Sofiane, Lamine, Katia, Hanane, Sara, Dyhia, Khadidja, Qui ont cru en moi et qui m'ont toujours encouragé et avec qui j'ai passé des moments inoubliables.

A tous les membres, dirigeants et athlètes de mon club de Hand Ball «Espérance Seddouk».

*A tous mes professeur, particulièrement notre encadreur M^rA. **Kachbi** que je ne remercierai jamais assez. Permettez-moi de vous dire, monsieur, que ce travail est le vôtre, vous serez toujours en ma mémoire, un symbole de sagesse et de bravoure.*

A ma chère binôme Feriel et toute sa famille, pour la sœur qu'elle était et qu'elle restera pour moi, pour tous les merveilleux moments depuis notre connaissance.

A toute la promotion de Génie Alimentaire 2019

Ouahbi Karima

SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction

Chapitre I : Synthèse bibliographique

| | |
|---|----|
| I.1. Généralités sur les herbes aromatiques..... | 01 |
| I.1.1. Historique..... | 03 |
| I.1.2. Différents types de plantes..... | 03 |
| I.1.3. Description des plantes aromatiques étudiées..... | 04 |
| I.2. Composés phénoliques..... | 13 |
| I.2.1. Importance des polyphénols | 13 |
| I.2.2. propriété antioxydant des polyphénols | 14 |
| I.2.3. Structures et classes des polyphénols | 14 |
| I.2.4. Principales classes des flavonoïdes | 15 |
| I.3. Extraction solide-liquide | 17 |
| I.3.1. Définition | 17 |
| I.3.2. avantage | 17 |
| I.3.3. Facteurs influençant les performances de l'extraction | 17 |
| a) Taille des particules | 17 |
| b) La nature du solvant | 18 |
| c) La température | 18 |
| d) Temps d'extraction | 19 |
| e) Degré d'agitation | 19 |
| I.3.4. infusion | 20 |
| I.4. Techniques d'analyses | 20 |
| I.4.1. Spectrophotométrie UV-Visible | 20 |
| I.4.2. Spectrophotométrie d'émission par plasma à couplage inductif ICP | 23 |
| I.5. Les plans d'expériences | 24 |
| I.5.1. Elaboration de modèles mathématiques | 25 |
| I.5.1.1. Principe de la modélisation | 25 |
| I.5.1.2. Calcul des coefficients de modèle | 27 |
| I.5.1.3. Test de signification des coefficients du modèle | 28 |

| | |
|---|----|
| I.5.1.4. Test de validité du modèle | 28 |
| I.5.1.5. Test de signification globale de la régression | 29 |
| I.5.1.6. coefficient de corrélation R^2 | 30 |

Chapitre II : Matériels et méthodes

| | |
|---|----|
| II.1. Matériel végétal utilisé..... | 31 |
| II.2. Matériels et réactifs..... | 31 |
| II.3. Appareillage et logiciels utilisés | 31 |
| II.4. Réactifs..... | 32 |
| II.5. Eaux utilisées | 32 |
| II.6. Séchage | 33 |
| II.7. Broyage | 33 |
| II.8. Préparation des solutions | 33 |
| II.9. Extraction par infusion | 33 |
| II.10. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes | 34 |
| II.10.1. Dosage des polyphénols | 34 |
| II.10.2. Dosage des flavonoïdes | 37 |
| II.12. Techniques d'analyse..... | 36 |
| II.12.1. Analyse par Spectrophotométrie UV-Visible | 39 |
| II.12.2. Spectrophotométrie d'émission par plasma à couplage inductif ICP | 40 |
| II.13. Modélisation de la concentration des polyphénols et les flavonoïdes par un plan composite centré | 40 |
| II.13.1. Intervalle des facteurs | 41 |
| II.13.2. Matrice des expériences | 41 |
| II.13.3. Estimation des coefficients du modèle | 42 |
| II.11. Piégeage du radical libre DPPH | 42 |

Chapitre III : Résultats et discussions

| | |
|---|----|
| III.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux | 45 |
| III.1.1. Dosage des polyphénols totaux | 45 |
| III.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux | 46 |
| III.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences | 47 |
| III.2.1. Elaboration du modèle du premier degré | 47 |
| III.2.2. Elaboration du modèle de second degré des polyphénols totaux extraits de la menthe | 51 |

| | |
|---|----|
| III.2.3. Elaboration du modèle du premier degré pour le Basilic..... | 59 |
| III.3. Teneurs des PT des extraits de sept herbes..... | 63 |
| III.3.1. Teneurs des PT | 63 |
| III.4. Pouvoir anti-radicalaire DPPH | 64 |
| III.5. Analyse par spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif (ICP)..... | 67 |
| III.6. Corrélation entre les teneurs des différentes grandeurs obtenues..... | 68 |

Liste des abréviations

Cm : Concentration massique de la matière sèche

DPPH : Di Phényl Picryl Hydrazyl

EAG : Equivalent D'acide Gallique

EQ : Equivalent Quercétine

FC : Folin-Ciocalteu

FT : Flavonoïdes Totaux

JC : Jésus Chris

NS: Non Significatif

PT : Polyphénols Totaux

S : Significatif

TFT : Teneur en Flavonoïdes Totaux

TPT : Teneur en Polyphénols Totaux

UV : Ultra Violet

IC50 : Concentration nécessaire pour réduire 50% du radical DPPH

Liste des tableaux

| | |
|--|----|
| Tableau I.1 : Composition en minéraux de 100g de Basilic <i>Ocimum basilicum</i> L | 05 |
| Tableau I.2 : Composition en minéraux de 100g de Menthe verte (<i>M. spicata</i> L) | 06 |
| Tableau I.3 : Composition en minéraux de 100g de <i>Thymus vulgari</i> | 08 |
| Tableau I.4 : Composition en minéraux de 100g d' <i>Origanum vulgari</i> s..... | 09 |
| Tableau I.5 : Composition en minéraux de 100g de Persil | 10 |
| Tableau I.6 : Composition en minéraux de 100g de Ciboulette..... | 11 |
| Tableau I.7 : Composition en minéraux de 100g de Rameaux et feuilles de <i>L. nobilis</i> | 13 |
| Tableau I.8 : Structure des squelettes des polyphénols | 15 |
| Tableau I.9 : Principales classes des flavonoïdes..... | 16 |
| Tableau I.10 : Nombre d'essais au centre et valeurs de α pour un plan composite avec le critère de la précision uniforme | 25 |
| Tableau II.1 : Réactifs utilisés | 32 |
| Tableau II.2 : Concentration des étalons pour l'acide gallique | 36 |
| Tableau II.3 : Concentration des étalons pour la quercitrine | 39 |
| Tableau II.4 : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés | 41 |
| Tableau II.5 : Matrice des expériences pour $N = 20$ | 4 |
| Tableau III.1 : Les absorbances correspondantes aux étalons d'acide gallique..... | 45 |
| Tableau III.2 : Les absorbances correspondantes aux étalons de la quercétine..... | 46 |
| Tableau III.3 : Matrice des expériences du plant factoriel complet à deux niveaux 2^3 | 47 |

| | |
|---|----|
| Tableau III.4 : Matrice des essais des points au centre..... | 47 |
| Tableau III.5 : Valeurs et signification des coefficients du modèle | 48 |
| Tableau III.6 : Analyses des variances (recherche de biais) | 50 |
| Tableau III.7 : Analyse des variances (signification de la régression) | 51 |
| Tableau III.8 : Matrice des essais 2 ^{ème} degré..... | 52 |
| Tableau III.9 : Valeurs et signification des coefficients du modèle quadratique | 53 |
| Tableau III.10 : Analyses des variances (recherche de biais et recherche de régression) | 54 |
| Tableau III.11 : Matrice des expériences du plant factoriel complet à deux niveaux 2 ³ et les résultats des TPT et TFT..... | 59 |
| Tableau III.12 : Valeurs et signification des coefficients du modèle | 60 |
| Tableau III.13 : Analyses des variances (recherche de biais | 62 |
| Tableau III.14 : Analyse des variances (signification de la régression) | 62 |
| Tableau III.15 : Teneur des plantes en métaux (μg métal/g matière sèche) | 67 |
| Tableau III.16 : Corrélation entre les métaux..... | 68 |
| Tableau III.17 : Corrélation entre TPT, TFT et IC50 | 68 |
| Tableau III.18 : Corrélation entre les métaux et (TPT et TFT) | 69 |

Liste des figures

| | |
|---|----|
| Figure I.1 : Basilic <i>Ocimum basilicum</i> L | 04 |
| Figure I 2 : Menthe verte (<i>M. spicata</i> L) | 05 |
| Figure I.3 : <i>Thymus vulgaris</i> | 07 |
| Figure I.4 : <i>Origanumvulgaris</i> | 09 |
| Figure I.5 : Persil | 10 |
| Figure I.6 : Ciboulette..... | 11 |
| Figure I 7 : Rameaux et feuilles de <i>L. nobilis</i> | 12 |
| Figure I.8 : Structure du noyau phénol | 14 |
| Figure I.9 : Squelette de base des flavonoïdes | 16 |
| Figure I.10 : Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau | 21 |
| Figure I.11 : Schéma de principe d'un spectrophotomètre UV-Visible | 22 |
| Figure I.12 : Représentation d'un processus..... | 25 |
| Figure II.1 : Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu | 34 |
| Figure II.2 : Schéma représentatif du protocole de dosage des polyphénols | 35 |
| Figure II.3 : Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes | 37 |
| Figure II.4 : Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes | 38 |
| Figure II.7 : Spectrophotomètre UV-visible..... | 40 |
| Figure II.5 : Réaction d'une structure polyphenolique avec le radicale DPPH..... | 43 |

| | |
|---|----|
| Figure II.6 : protocole utilisé pour la détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH | 44 |
| Figure III.1 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique | 45 |
| Figure III.2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine | 46 |
| Figure III.3 : Surface et isoréponses (X2, X3) | 56 |
| Figure III.4 : Surface et isoréponses (X1, X3) | 57 |
| Figure III.5 : Surface et isoréponses (X1, X2) | 58 |
| Figure III.6 : Teneur des polyphénols en g EAG/100g MS | 63 |
| Figure III.7 : Teneur des Flavonoïdes en g EQ/100g MS | 63 |
| Figure III.8 : Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations des extraits en g EAG/100g MS | 65 |
| Figure III.9 : Valeurs des concentrations d'IC50 | 66 |
| Figure III.10 : Relation entre TPT et TFT..... | 69 |

Introduction générale

Les plantes aromatiques sont des sources précieuses de composés bénéfiques pour la santé, tels que les polyphénols [1]. Ces composés sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Ces substances jouent aussi un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème [1].

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé [2]. Parmi les divers procédés utilisés, on compte l'extraction par infusion. Le rendement de cette dernière dépend de plusieurs facteurs, nous pouvons citer la température et le temps d'infusion, la masse de l'herbe par unité de volume d'eau,ect.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence des trois facteurs cités précédemment sur l'extraction par infusion des composés phénoliques en utilisant la méthode des plans des expériences. Pour cela, nous avons déterminé les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoides totaux des extraits d'infusion de la menthe et du basilic. Nous avons étudié aussi les différences entre les extraits de sept herbes : menthe, basilic, persil, origan, ciboulette, thym et laurier. Nous nous sommes intéressés au pouvoir antioxydant et aux teneurs de leurs extraits d'infusion en polyphénols totaux, flavonoides totaux et métaux.

Notre travail est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre sera consacré à une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur les herbes aromatiques, les composés phénoliques, la méthode d'extraction solide-liquide (infusion), les techniques d'analyses (UV-visibles, ICP) et la méthode des plans d'expériences.
- Le deuxième chapitre est consacré aux matériels et les procédures expérimentales.

- Le troisième chapitre présente l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus au cours de cette étude et leurs interprétations. Enfin, le document se termine par une conclusion générale.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les herbes aromatiques

I.1.1. Historique

Depuis l'antiquité l'homme utilise les plantes comme une source principale de nourriture et comme remèdes aux différentes maladies.

Le premier témoignage de l'utilisation des herbes figure sur un papyrus égyptien daté d'environ 2000 avant J.-C., qui mentionne l'existence de docteur ès herbe. C'est une caractéristique commune à toutes les anciennes civilisations, ainsi, en Inde et en Chine la médecine faisait amplement appel aux herbes [3].

Les molécules issues des plantes dites naturelles sont considérées comme une source très importante de médicaments, et d'après les études statistiques, plus de 25% des médicaments dans les pays développés dérivent directement ou indirectement des plantes [4].

Les plantes médicinales portent à la fois sur les plantes spontanées dites « sauvage » et sur les plantes cultivées [5]. Elles ont connus ces dernières années un important regain d'intérêt et ceci devant le recul des produits chimiques. La diversité de leur utilisation (pharmacologie, cosmétique, fabrication de détergents, teinture et produits de massage) a accru la demande, surtout en huiles essentielles. Cette demande a été étendue aux études de la valorisation des ressources phytogénétiques (biopesticides, pratique des cultures associées, industrie cosmétique, etc ...) [5].

Selon le Larousse gastronomique, les herbes sont le nom générique donné à diverses plantes potagères à feuilles vertes ainsi qu'à des aromates. Les herbes d'assaisonnement, appelées aussi fournitures à salade, englobent les fines herbes et les plantes aromatiques herbacées [6].

I.1.2. Différents types de plantes

Les grands types de plantes aromatiques et médicinales utiles à l'homme peuvent être définis par leur principal usage. On peut citer [7] :

- Les plantes alimentaires à grandes cultures et spontanées ;
- Les plantes condimentaires (estragon, persil, cerfeuil, ciboulette, ail) ;
- Les plantes à boisson (fenouil, anis vert, badiane, gentiane jaune, myrtille, camomille)
- Les épices ;

- les plantes à parfum (rose de mai, violette, lavande, jasmin, sauge, basilic, thym, romarin, marjolaine, coriandre, origan) ;
- Les plantes médicinales à grandes cultures (pavot œillette, digital laineuse) et spontanées ;
- Les plantes à tisanes et infusettes : (menthe, camomille, mélisse, sauge, fleur d'oranger) ;
- Les plantes forestières à grandes cultures et spontanées ;
- Les plantes ornementales.

I.1.3. Description des plantes aromatiques étudiées

I.1.3.1 Basilic (*Ocimum basilicum* L)

Le basilic (*ocium basilisium* L) est une plante à haute valeur ajoutée car utilisée en cuisine pour son arôme et en médecine traditionnelle pour ses propriétés digestive, diurétiques et antiseptiques. Plante herbacée annuelle regroupées en épis pouvant atteindre 60 cm de hauteur (**figure I.1**) possédant des glandes sous épidermique aromatique. Les fleurs sont petites et regroupées en épis à l'extrémité des rameaux et à l'aisselle des feuilles. Les différentes variétés de basilic se distinguent par leurs couleurs, formes, tailles et leurs parfums [8].



Figure I.1 : Basilic *Ocimum basilicum* L [9].

- **Composition du Basilic**

Le **tableau I.1** apporte une information sur la quantité moyenne ainsi que les quantités minimum et maximum de métaux (mg) pour 100 g net de basilic [10].

Tableau I.1 : Composition en minéraux de 100g de Basilic *Ocimum basilicum L*

| Minéraux et oligo-éléments | Quantité | Max_Min |
|----------------------------|----------|--------------|
| Calcium | 273 mg | 143-369 mg |
| Cuivre | 0,39 mg | 0,2-0,48 mg |
| Fer | 5,24 mg | 3,17-7,3 mg |
| Magnésium | 64 mg | 47-82 mg |
| Manganèse | 1,15 mg | 0,85-1,58 mg |
| Phosphore | 56 mg | 43-72 mg |
| Potassium | 295 mg | 128-565 mg |
| Sodium | 12 mg | 3-20 mg |
| Zinc | 0,81 mg | 0,53-1,17 mg |

I.1.3.2 Menthe verte (*M. spicata L*)

La menthe verte est une plante aromatique vivace stolonifère. Les feuilles sont d'un vert foncé, les plus jeunes sont d'un vert clair brillant. Elles sont sessiles, ovale (**figure I. 2**).

Les inflorescences sont des épis allongés, de couleur blanche ou pourpre. Les étamines sont plus longues que la corolle et écartées entre elles. La menthe verte est très commune en Afrique du nord [11].



Figure I.2: Menthe verte (*M. spicata L*)[12].

➤ **Principales propriétés**

- À la fois rafraîchissante, tonifiante et stimulante, elle est idéale en cas de fatigue, qu'elle soit d'ordre physique ou morale ;
- Elle a de puissantes vertus antibactériennes ;
- Elle a des propriétés antidouleur, notamment en cas de migraine [13].

➤ **Composition de la menthe verte**

Le **tableau I.2** présente la teneur en métaux pour 100 g de Menthe verte qui entrent dans sa composition [14] :

Tableau I.2 : Composition en minéraux de 100g de Menthe verte (*M. spicata L.*).

| Minéraux et oligo-éléments | Quantité | Max-Min |
|----------------------------|----------|--------------|
| Calcium | 221 mg | 199-243 mg |
| Cuivre | 0,28 mg | 0,24-0,33 mg |
| Fer | 8,48 mg | 5,08-11,9 mg |
| Magnésium | 71,5 mg | 63-80 mg |
| Manganèse | 1,15 mg | 1,12-1,18 mg |
| Phosphore | 66,5 mg | 60-73 mg |
| Potassium | 514 mg | 458-569 mg |
| Sélénium | 0,5 µg | - |
| Sodium | 30,5 mg | 30-31 mg |
| Zinc | 1,1 mg | 1,09-1,11 mg |

I.1.3.3. Thym (*Thymus vulgaris*, Lamiacées)

- **Origine du nom** : le nom thym proviendrait aussi bien du latin que du grec *Thymus* : «parfumer» (latin) *Thymus* : «courage» (grec).
- *Thymus vulgaris*, est un sous arbrisseau, vivace, touffu et très aromatique de 7-30 cm de hauteur, d'un aspect grisâtre ou vert grisâtre.
- Ses tiges ligneuses à la base, herbacées supérieurement sont presque cylindriques très rameuses et regroupées en touffe ou en buisson très dense. Ses feuilles sont très petites, ovales, à bord roulés en dessous à nervures latérales distinctes, au pétiole extrêmement court et blanchâtres à leur face inférieure. Ses fleurs sont presque roses ou blanches, font de 4 à 6 mm de longueur (**figure I.3**), sont pédicellées et réunies ordinairement au nombre de trois à l'aisselle des feuilles supérieures [15].



Figure I.3 : *Thymus vulgaris* [16].

➤ Principales propriétés

- Assaisonnement des aliments et des boissons ;
- Antiseptique, désinfectant dermique et spasmolytique bronchique dont il est Indiqué pour traiter les infections des voies respiratoires supérieures ;
- Les principaux constituants du thym montrent des propriétés vermifuges et vermicides ;
- Propriétés antivirales, antifongiques, anti inflammatoires, et antibactériennes ;
- Propriétés antioxydantes (raison de ces propriétés, le thym est utilisé comme un conservateur afin de prolonger la durée de conservation des poissons durant leur stockage [15].

➤ **Composition du Thym**

Le **tableau I.3** présente la teneur moyenne en métaux pour 100 g de thym [17] :

Tableau I.3 : Composition en minéraux de 100 g de *Thymus vulgaris*.

| Minéraux et oligo-éléments | Quantité |
|----------------------------|----------|
| Calcium | 405 mg |
| Cuivre | 0,56 mg |
| Fer | 17,5 mg |
| Magnésium | 160 mg |
| Manganèse | 1,72 mg |
| Phosphore | 106 mg |
| Potassium | 609 mg |
| Sodium | 9 mg |
| Zinc | 1,81 mg |

I.1.3.4. Origan (*Origanum vulgare*)

L'origan est une plante herbacée qui pousse dans un terrain montagneux de la région sud-méditerranéenne, mais on la trouve aussi en Asie centrale et Europe.

Plante vivace de 30-80 cm de hauteur (**figure I.4**) poilue, souvent rougeâtre, aromatique. Elle possède une tige dressée, rameuse, avec des feuilles pétiolées, ovales ou elliptiques, vaguement denticulées ou entières. Ses fleurs roses, subsessiles, en épis ovoïdes subtétragones agglomérés au sommet des rameaux et formant une panicule [18].



Figure I.4 : Origanum vulgare [19].

➤ **Principaux composés chimiques de la plante**

- **Phénols** (60 à 70%), Huile essentielle à carvacrol majoritaire ;
- **Mono terpènes** (25 à 30%) (Terpinène), Monoterpénols (5 à 10%), Tanins ;
- **Flavonoïdes** : hétérosides de lutoéline, d'épigénine et de naringénine, Acides phénoliques [18].

➤ **Composition de l'Origan**

Le **tableau I.4** présente la teneur moyenne en métaux pour 100 g de l'origan moulu [20].

Tableau I.4 : Composition en minéraux de 100g d'Origanum vulgare.

| Minéraux et oligo-éléments | Quantité |
|----------------------------|----------|
| Sodium | 15 mg |
| Calcium | 1576 mg |
| Phosphore | 200 mg |
| Fer | 44 mg |
| Magnésium | 270 mg |
| Potassium | 1669 mg |
| Zinc | 4,430 mg |
| Cuivre | 0,943 mg |
| Sélénium | 5,9 µg |

I.1.3.5. Persil (*petroselinum crispum mill.*)

Le persil est une plante bisannuelle fragile, à racine pivotante. Ses tiges sont cylindriques finement striés dans le sens de la longueur et très divisées. Les inférieurs pétiolés sont bipalmatiséqués, à bords dentelés et entiers (**figure I.5**).

Ses fleurs blanches verdâtre sont réunies en ombelles à 2-12 rayons. Son fruit, gris verdâtre à gris brun est un diakène côtelé [21].



Figure I.5 : Persil [22].

➤ Composition du Persil

Le **tableau I.5** présente la teneur maximale et minimale ainsi la moyenne en métaux pour 100 g de persil [23]:

Tableau I.5: Composition en minéraux de 100 g de Persil

| Minéraux et oligo-éléments | Quantité | Min-Max |
|----------------------------|----------|--------------|
| Calcium | 218 mg | 94-354 mg |
| Cuivre | 0,12 mg | 0,09-0,15 mg |
| Fer | 4,67 mg | 1,5-12,8 mg |
| Iode | 5 µg | 4,3-47 µg |
| Magnésium | 39,5 mg | 17,3-50 mg |
| Manganèse | 1,7 mg | 0,16-5,3 mg |
| Phosphore | 65 mg | 52,5-98,9 mg |
| Potassium | 598 mg | 443-768 mg |
| Sélénium | 0,1µg | 0,75-0,2µg |
| Sodium | 54,3 mg | 20,9-139 mg |
| Zinc | 0,77 mg | 0,46-1,07 mg |

I.1.3.6. Ciboulette (*Allium schoenoprasum* L)

Membre de la famille des oignons et cultivée à partir de bulbes, la ciboulette vient du nord de l'Europe ou elle pousse parfois à l'état sauvage on en trouve aussi dans les régions tempérées d'Amérique du Nord.

Elle pousse en bouquets, ses feuilles circulaires et creuses comme de l'herbe peuvent atteindre 23cm. Les tiges sont fermes droites et comme les feuilles d'un vert foncé (**figure I.6**). Les fleurs qui éclosent au milieu de l'été forment des inflorescences rondes d'un mauve profond ou rose et servent souvent en décoration [24].



Figure I.6 : Ciboulette [25].

➤ Composition de la ciboulette

Le tableau I.6 présente la teneur maximale et minimale ainsi que la moyenne en métaux pour 100 g de ciboulette [26] :

Tableau I.6 : Composition en minéraux de 100g de Ciboulette

| Minéraux | Quantité | Min-Max |
|-----------|----------|---------------|
| Calcium | 92,8 mg | 25,9-132 mg |
| Cuivre | 0,1 mg | 0,083-0,16 mg |
| Fer | 1,31 mg | 1-2 mg |
| Iode | 2,2 µg | 0,65-5,2 µg |
| Magnésium | 23,8 mg | 12-42 mg |
| Manganèse | 0,85 mg | 0,16-5,3 mg |
| Phosphore | 46,3 mg | 37-64,9 mg |
| Potassium | 275 mg | 232-296 mg |
| Sélénium | 0,35 µg | 0,1-0,6 µg |
| Sodium | 11,5 mg | 0,39-0,56 mg |
| Zinc | 0,45 mg | 0,39-0,56 mg |

I.3.7. Laurier (*L. nobilis*)

Le laurier sauce est un arbre pouvant atteindre 15 m de haut. Son écorce est lisse et noire et son feuillage est persistant (**figure I.7**).

Les feuilles sont alternes, allongées, lancéolées ayant 10 cm de long sur 3 à 5 cm de large.

Elles sont courtement pétiolées. Le limbe est coriace, glabre et entier. Les feuilles sont d'un vert foncé et luisant, à leur partie supérieure, et pâles à leur partie inférieure. Les inflorescences sont des ombelles axillaires blanc jaunâtres [27].



Figure I.7: Rameaux et feuilles de *L. nobilis* [28].

➤ Principales propriétés

- En infusion, il aide à digérer. Mais attention pris en début de repas, il a plutôt tendance à couper l'appétit ;
- C'est un excellent antiseptique, antiviral et antibactérien. Utile en cas de rhume, de grippe ou pour toute autre infection ;
- Il soulage les rhumatismes et toutes les douleurs articulaires ou musculaires [13].

➤ Composition de laurier sauce

Le **tableau I.7** présente la teneur moyenne en métaux pour 100 g de laurier [29] :

Tableau I.7 : Composition en minéraux de 100g de Rameaux et feuilles de *L. nobilis*

| Minéraux | Quantité |
|-----------|----------|
| Calcium | 834 mg |
| Fer | 43 mg |
| Magnésium | 120 mg |
| Phosphore | 113 mg |
| Potassium | 529 mg |
| Sodium | 23 mg |
| Zinc | 3,7 mg |
| Cuivre | 0,416 mg |
| Manganèse | 8,167 mg |
| Sélénium | 2,8 µg |

I.2. Composés phénoliques

I.2.1. Importance des polyphénols

Les composés phénoliques sont naturellement présents dans diverses familles de plantes et forment une partie importante de l'alimentation humaine. En outre, leurs consommation régulière a été associée à des effets bénéfiques pour la santé.

Des effets protecteurs de la consommation d'aliments riches en polyphénols vis-à-vis de différentes pathologies (maladies cardiovasculaires, cancers, diabète...) ont été mis en évidence tant d'un point de vue épidémiologique qu'expérimental. De nombreuses études se sont penchées sur l'analyse du mode d'action des polyphénols dans la prévention de ces pathologies, qui met en cause les propriétés réductrices des polyphénols et/ou leur affinité pour une grande variété de protéines (enzymes, récepteurs, facteurs de transcription) [30].

En effet, plusieurs composés phénoliques, tels que la quercétine, acide gallique, etc., ont prétendu avoir de multiples activités biologiques contre allergies, hypertension, arthrite, prévention du cancer et inhibition l'initiation et la progression de la tumeur.

En outre, les composés phénoliques sont importants dans l'hygiène alimentaire en raison de leurs effets bactéricides et par conséquent, ils sont nécessaires pour assurer la conservation et le niveau de qualité de plusieurs aliments [31].

I.2.2. Propriété antioxydant des polyphénols [32]

C'est la capacité de capter ou de piéger les radicaux libres produit spontanément et d'une façon continue dans l'organisme vivant.

a) Radicaux libres

Par définition, les radicaux libres sont des entités chimiques possédant un électron non apparié «célibataire» sur la couche périphérique du squelette moléculaire. Cet électrons célibataire a naissance suite à un apport d'énergie susceptible et suffisant pour entrainer la rupture des liaisons entres les électrons.

Les radicaux libres sont doués d'une forte réactivité, qui peut mener à un désordre les structures moléculaires, en oxydant les lipides membranaires, les protéines cellulaires, ainsi provoquant la mort cellulaire.

b) Stresse oxydatif :

Le stress oxydatif est un déséquilibre entre la génération des ERO et la capacité du corps à les neutraliser. Il correspond à une perturbation du statut oxydatif intracellulaire [33].

Les dommages oxydants sont réalisés par l'attaque des radicaux libres sur de diverses biomoléculaire, en particulier les protéines, les lipides et l'ADN, ayant finalement comme conséquence la dégradation et la mort de cellules [34].

I.2.3. Structures et classes des polyphénols :

L'élément structural fondamental qui caractérise les composés phénoliques est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (**Figure I.8**), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside [30].



Figure 1.8 : Structure du noyau phénol.

Les polyphénols forment un très vaste ensemble de substances chimiques, ils peuvent être classifiés selon le nombre et l'arrangement de leurs atomes de carbones (**Tableau I.8**)

Ces molécules sont généralement trouvés conjuguées aux sucres et les acides organiques [32].

Tableau I.8: Structure des squelettes des polyphénols [30].

| Nombre de carbone | Squelette | Classification | Exemple | Structure de base |
|-------------------|--|--------------------------|-------------------------------|-------------------|
| 7 | C ₆ -C ₁ | Acides phénols | Acide gallique | |
| 8 | C ₆ -C ₂ | Acétophénonnes | Gallacetophénones | |
| 8 | C ₆ -C ₂ | Acide phénylacétique | Acide p-hydroxyphénylacétique | |
| 9 | C ₆ -C ₃ | Acides hydroxycinamiques | Acide p-coumarique | |
| 9 | C ₆ -C ₃ | Coumarines | Esculitine | |
| 10 | C ₆ -C ₄ | Naphtoquinones | Juglone | |
| 13 | C ₆ -C ₁ -C ₆ | Xanthones | Mangiferine | |
| 14 | C ₆ -C ₂ -C ₆ | Stilbénes | Resveratrol | |
| 15 | C ₆ -C ₃ -C ₆ | Flavonoïdes | Naringénine | |

I.2.4. Principales classes des flavonoïdes

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 9000 composés différents et distribués de manière générale, dans toutes les plantes vasculaires.

Leur squelette chimique commun possède 15 atomes de carbones, constitué de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un cycle puranique central C (**Figure I.9**). Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C [35].

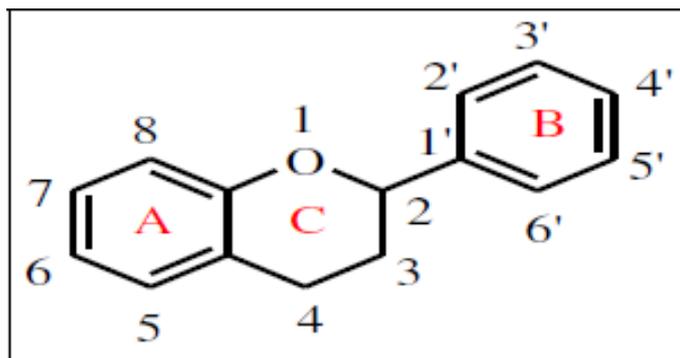


Figure I.9 : Squelette de base des flavonoïdes [35].

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones, les flavanones, et les anthocyanes. Ils sont localisés dans divers organes : fleurs, fruits, feuilles, tiges et racines. La couleur des fruits, des fleurs et des feuilles est une caractéristique des flavonoïdes [35].

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont représentées dans le **tableau I.9** suivant [36].

Tableau I.9 : Principales classes des flavonoïdes

| Famille | Molécules principales | Distribution |
|--------------|------------------------------------|---|
| Flavone | apigénine, lutéoline, chrysin | herbes aromatiques (persil, romarin, thym) ; pomme, céleri |
| Flavanone | hespéridine, naringine, taxifoline | citrus et agrumes |
| Flavonol | quercitrine, et kaempférol | pamplemousse, radi, brocoli, oignon, laitue, vin rouge, raisin, olive, thé noir |
| flavan-3-ols | (+)-catéchine, (-)-epicatéchine | thé vert et noir, vin rouge |
| Isoflavones | genistéine et daidzéine | légumineuses (soja, haricots noirs et pois chiches verts) et les graines de tournesol |
| Anthocyanes | cyanidine, pelargonidine | fruits et légumes rouges et violets |

I.3. Extraction solide-liquide

I.3.1. Définition

L'extraction solide-liquide, encore appelée extraction par solvant est une opération de transfert de matière destinée à séparer les principes actifs d'un substrat solide par leur diffusion dans un solvant. Son but est d'extraire, de séparer ou de dissoudre par immersion dans un liquide ou par arrosage par un liquide, un ou plusieurs composants mélangés à un solide. La diffusion est réalisée grâce à l'existence d'un gradient de concentration en solution à extraire entre la phase solide et la phase liquide. A la fin de l'opération, le système tend vers l'équilibre. Il s'agit normalement d'une opération à pression constante.

L'extraction solide-liquide se présente sous plusieurs variantes (percolation, décoction, infusion et macération) avec comme dénominateur commun de faire interagir le solvant sur le matériau solide pour dissoudre ses composés solubles [38].

I.3.2. Avantages

- Rapidité de l'opération d'extraction (pas de longue agitation et la séparation des phases s'effectuent par simple filtration) ;
- Plus de sélectivité par le large choix des phases solides (résines) et d'extractants ;
- Plus économique (faible consommation de solvants) ; Régénération de la phase solide par un simple lavage adéquat [39].

I.3.3. Facteurs influençant les performances de l'extraction

a) Taille des particules

Tous les auteurs s'accordent sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériel. En effet, à taux de solide donné, la surface de contact entre le solide et le liquide augmente lorsque la taille de la particule diminue à travers l'augmentation de la surface spécifique comme $6/d_p$ [40]. D'autre part, dans les opérations de transfert de matière par diffusion, le gradient de concentration augmente directement avec la diminution de la taille de la particule et le temps de traversée nécessaire intervient généralement proportionnellement au carré de la distance traversée. L'opération doit donc être nettement mieux intensifiée à la suite d'un bon broyage [41].

Nous pouvons ainsi citer à titre d'exemples que de plus grands rendements d'extraction de composés phénoliques et d'anthocyanes ont été observés avec la diminution de la taille des particules de tournesol [35, 36] ou des résidus de pression de jus de cassis [42].

On est cependant limité dans la finesse des particules : la présence de fines induit une exagération dans ce sens et implique une réduction notable de la perméabilité du lit de solides au solvant, ce qui entraîne l'établissement de courants préférentiels bloquant ainsi le processus d'extraction dans certains endroits où le solvant ne peut plus circuler [43,43].

b) **La nature du solvant**

Un solvant est par définition une substance qui a le pouvoir de former avec d'autres substances une solution homogène [45]. Un solvant d'extraction est choisi en fonction de :

- ✚ Ses propriétés physiques : densité, viscosité, point d'ébullition, chaleur spécifique, etc. déterminant les conditions de l'épuisement, vitesse d'écoulement et de filtration, conditions de distillation et de concentration, pertes par volatilisation, ... [46],
- ✚ La nature des principes à dissoudre,
- ✚ Ses caractéristiques économiques et son prix de revient.

Le solvant doit être sélectif, posséder une grande capacité de dissolution, une température d'ébullition peu élevée, une faible viscosité et être, si possible, non toxique, ininflammable, et non explosif.

c) **La température**

Il est difficile de cerner de façon simple l'influence de la température sur l'extraction. Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour quatre principales raisons :

- ✚ La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation,
- ✚ La gamme des hautes températures usuelles, augmente la solubilité des matières à extraire,
- ✚ Elle augmente les coefficients de diffusion,
- ✚ enfin, elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation.

La limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de :

- ✚ dégradation thermique du soluté
- ✚ risques d'extraire des composés nuisibles [47, 48].

Plusieurs travaux ont conclu de l'effet positif de l'augmentation de la température sur la cinétique d'extraction et la diffusivité des composés phénoliques à partir de la fraise [48, 49], des anthocyanes à partir de la carotte noire [48] et de composés solubles dans l'eau à partir des oranges [49].

d) Temps d'extraction

Les quantités de substances extraites sont fonction du temps de séjour du matériel au sein du solvant (temps nécessaire à la pénétration du solvant à l'intérieur des vacuoles, dissolution du composé, etc.).

Généralement, une élévation de la température traduisant l'agitation moléculaire permet de diminuer les temps de contact et ce, sans diminution notable du rendement.

A titre indicatif, une méthode comme la macération dure environ 8 à 10 jours, par contre des méthodes comme la décoction ne nécessitent que des temps de contact rapides de l'ordre d'une dizaine de minutes [50].

e) Vitesse d'agitation

L'agitation mécanique des particules dans le solvant, qui permet leur maintien en suspension et l'homogénéisation du milieu, a un effet toujours favorable sur l'opération. Dans le cas de l'extraction aqueuse, l'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide liquide (couche limite) et d'augmenter Le coefficient de transfert.

Si l'agitation est maintenue durant une longue période, elle va favoriser les chocs entre les différentes particules et permettre ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu [51, 52].

I.3.4. Infusion

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs et/ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide (eau) initialement bouillant que l'on laisse refroidir [53, 54]. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes. C'est la méthode la plus courante connaissant un regain d'intérêt certain grâce notamment à la phytothérapie, aromathérapie et gemmothérapie s'expliquant par l'attrait de la médecine douce, traditionnelle et aussi par la quête de nouvelles saveurs aromatiques [55].

Le principe de cette méthode consiste à verser de l'eau chaude sur les plantes sèches et on laisse infuser le temps nécessaire. Le temps d'infusion est variable suivant la nature de la plante (de quelques minutes à 1 heure) [56].

Ce procédé s'applique aux feuilles, aux fleurs, aux fruits tendres et aux parties aériennes ainsi qu'à certaines parties corticales et aux racines fragmentées [57]. Attention cependant à ne pas prolonger le temps d'infusion, la tisane devenant astringente car trop chargée en tannins. La solution alors obtenue s'appelle infusion ou infusé [58].

I.4. Méthodes d'analyses**I.4.1. La spectrophotométrie UV-Visible****I.4.1.1. Définition**

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique fondée sur l'étude du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application comprise entre 200 et 800 nm, en effet pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbantes [59].

Le résultat correspond à des spectres d'émission ou d'absorption [60], qui ressemble à des courbes de variation d'absorption en fonction de la longueur d'ondes, il est obtenu par un spectrophotomètre à une lumière sensiblement monochromatique, ou le chromophore est le site dont la structure de l'élément à étudier possède l'aptitude à absorber les photons UV ou visible. Il est caractérisé par la longueur d'onde la plus absorbée (λ_{\max}), et l'aptitude la plus importante à absorber les photons à cette longueur d'onde (ξ_{\max}) [61].

I.4.1.2. Principe de la spectrophotométrie UV-visible

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de mesurer l'absorbance d'une solution, pour différentes longueurs d'ondes. Pour cela, il fait passer un rayon d'une longueur d'onde choisie à travers une cuve contenant la solution à étudier (**figure I.10**). Les molécules de la solution absorbent plus ou moins le rayon lumineux, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde [62].

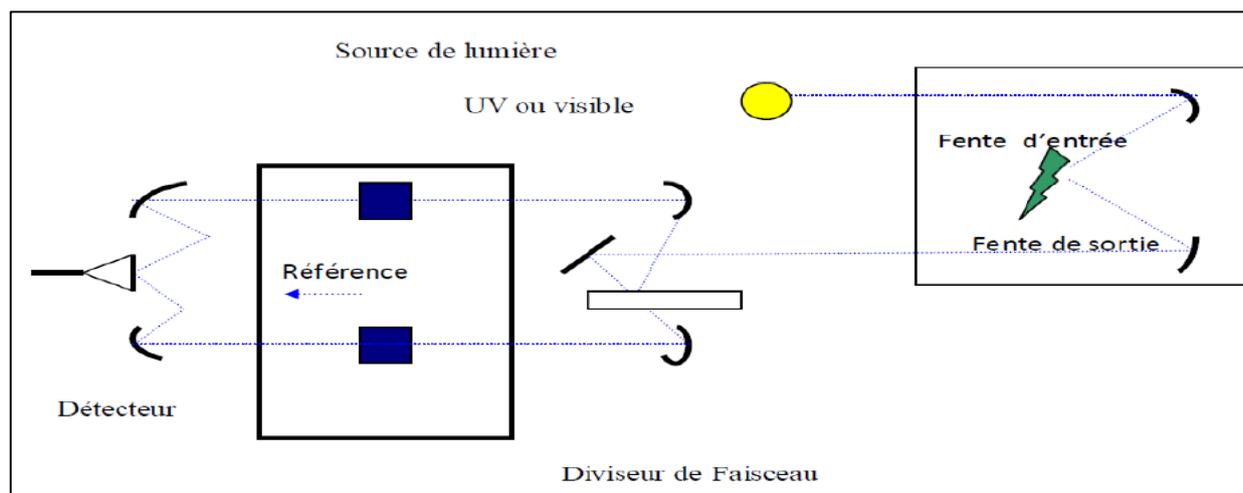


Figure I.10: Schéma de principe d'un spectrophotomètre à double faisceau [63].

Les molécules qui présentent un spectre d'absorption UV-visible sont celles qui absorbent des photons dont l'énergie correspond à des longueurs d'onde se situant dans le domaine 190 nm – 800 nm. Lorsque des molécules absorbent des photons de l'UV-Visible, l'énergie des électrons de valence augmentent. Le phénomène d'absorption dans le domaine UV-Visible est lié aux variations de l'énergie moléculaire de transitions électroniques [64].

a) La loi de Beer-Lambert

Le domaine spectral de l'UV-Visible est largement exploité en analyse quantitative. La loi de Beer- Lambert est une loi additive qui s'applique aux différentes molécules présentes en solution ou pour une même molécule aux différentes formes qu'elle peut prendre [65].

La loi de Beer-Lambert sert à établir une relation entre l'absorbance, l'épaisseur de l'échantillon et la concentration des espèces absorbantes.

Cette relation s'écrit : $\text{Log}(I_0/I) = \epsilon CL$

Ou bien sous sa forme actuelle est : $A = \epsilon CL$

Avec : A : absorbance

ϵ : Coefficient d'extinction molaire ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot \text{L}$).

C : Concentration (mol/L)

L : Epaisseur de la cuve (cm).

I_0 : Intensité de l'énergie d'irradiation arrivant sur l'échantillon (Lumière incidente)

I : Intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon (Lumière transmise)

La loi de Beer-Lambert n'est vérifiée que si les conditions suivantes sont respectées : (une lumière monochromatique, des solutions très diluées et pas de réflexion, diffusion ou fluorescence du faisceau incident) [62].

I.4.1.3. Appareillage [64]

Un spectrophotomètre UV-Visible est constitué schématiquement (**figure I.11**) :

- d'une source lumineuse ;
- d'une cellule de mesure ;
- d'un sélecteur de longueur d'onde ou monochromateur ;
- d'un système de mesure de l'intensité lumineuse ou détecteur ;
- d'un dispositif d'affichage et de traitement du signal

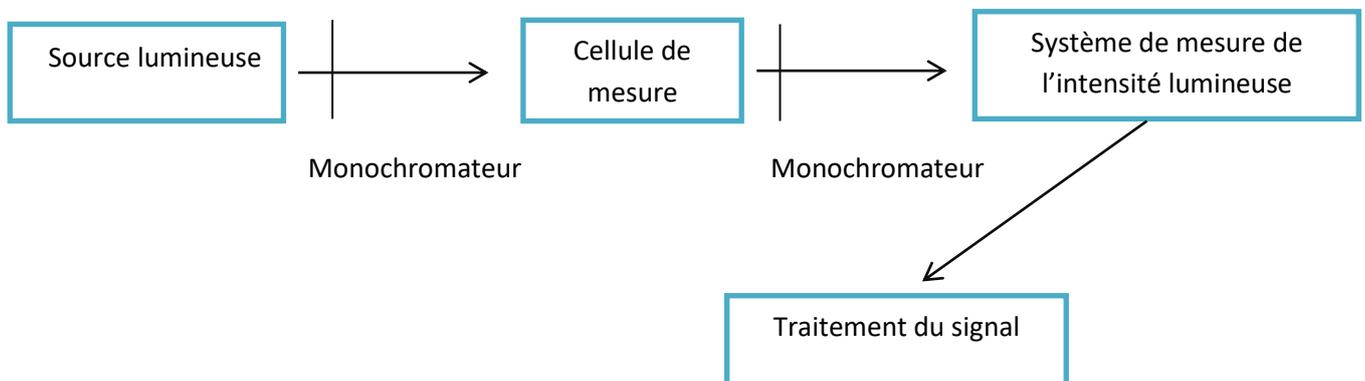


Figure I .11 : Schéma de principe d'un spectrophotomètre UV-Visible.

I.4.1.4. Applications

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode facile à mettre en œuvre. Elle est utilisée aussi bien pour l'analyse qualitative que quantitative [63].

a) Analyse qualitative (identification des substances)

La méthode détecte les groupements fonctionnels chromophores mais ne permet pas l'identification certaine des molécules. Elle doit toujours être complétée par d'autres méthodes spectrales (IR, RMN, spectrométrie de masse) ou chimiques.

b) Analyse quantitative

Les mesures en UV/Visible reposent sur la loi de Beer et Lambert ; qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution

I.4.1.5. Principe d'étalonnage avec le spectrophotomètre

La méthode de mesure consiste à mesurer directement le rapport entre le flux incident et le flux transmis à travers l'éprouvette. Pour ces mesures, le spectrophotomètre fonctionne en mode « double faisceau ». La transmission du filtre est obtenue en faisant le rapport entre le signal « voie échantillon » et le signal « voie référence ». Ce mode de fonctionnement permet de corriger les variations d'émission de la source et les variations de transmission de l'atmosphère sur le trajet optique du faisceau [65].

I.4.2. Spectrophotométrie d'émission à plasma à couplage inductif ICP

La spectroscopie d'émission atomique avec plasma couplé par induction (ICP -AES) est une technique d'analyse multi-élémentaire à fort potentiel. Elle offre 29 possibilités très intéressantes, avec peu d'interférences, la détermination simultanée de nombreux éléments sur les appareillages multicanaux, une grande stabilité, une bonne reproductibilité, et un très faible bruit de fond. Cette technologie a démontré son excellence pour l'analyse des métaux dans des échantillons aussi divers que l'eau, le sang, les végétaux, les métaux, les roches, les céramiques. Les matériaux solides sont préalablement soumis à une dissolution. L'analyse par ICP-AES mesure les radiations émises par les atomes excités ou ionisés. Le rayonnement émis est spécifique d'un élément donné et son intensité est proportionnelle à sa concentration.

Pour être excité, l'échantillon est nébulisé sous argon puis injecté dans une torche plasma où l'application d'un champ issu d'un générateur radio fréquence permet la création un plasma.

Les températures atteintes par le plasma sont de l'ordre de 5000 à 10000 °K.

Les eaux sont préalablement filtrées et acidifiées. Dans les cas d'échantillons contenant des matières en suspension ou pour des sédiments une mise en solution est nécessaire. Le principal avantage de l'ICP-AES est d'être pratiquement insensible aux effets de matrice.

Cette technique multi-élémentaire se caractérise aussi par une très grande sensibilité jusqu'au µg/L. Les principales composantes d'un ICP-AES sont :

- Un système d'introduction d'échantillon (nébuliseur) ;
- Une torche ICP ;
- Un générateur radio fréquence ;
- Un système optique qui permet d'acquérir des spectres d'émission du plasma ;
- Un système de traitement de signal qui permet l'analyse qualitative et quantitative à partir du rayonnement émis [66].

I.5. Les plans d'expériences [68]

Les plans d'expériences simples mais très utiles qui trouvent beaucoup d'applications sont les plans factoriels complets à deux niveaux. Ces plans permettent une modélisation du premier degré avec ou sans interactions. Cependant, lorsque le nombre de facteurs dépassent 5. Le nombre d'expériences augmente considérablement. A cet effet, une stratégie séquentielle d'utilisation des plans d'expériences est préconisée pour réduire le nombre des essais et obtenir la surface de réponse représentant le mieux le phénomène étudié. Parmi les plans pour surfaces de réponse, le plan composite centré qui se prête à une étude séquentielle des essais sera décrit. Le nombre des essais à réaliser est fonction des critères d'optimalité. Le critère d'isovariance par rotation principalement, le plan de précision uniforme est le critère que nous utiliserons.

Les caractéristiques d'un plan composite respectant ce critère dépendent du nombre k de facteurs choisis. Aux $N_f = 2^k$ essais du plan factoriel s'ajoutent des essais supplémentaires dits en étoile situés à une distance α égale à la racine quatrième du nombre de points du plan factoriel.

$$\alpha = 2^{k/4} \quad (I.1)$$

Le nombre d'essais en étoile N_α est égal à $2k$. Le nombre d'essais N_0 au centre est fonction de k et du critère d'optimalité choisi ; ces essais servent à tester la validité du modèle mais aussi à estimer l'erreur expérimentale.

Tableau I.10 : Nombre d’essais au centre et valeurs de α pour un plan composite avec le critère de la précision uniforme [67].

| Nombre de facteurs k | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |
|----------------------|------|------|----|------|------|
| N_f | 4 | 8 | 16 | 32 | 64 |
| N_0 | 8 | 9 | 12 | 17 | 24 |
| N_α | 4 | 6 | 8 | 10 | 12 |
| α | 1,41 | 1,68 | 2 | 2,38 | 2,83 |

I.5.1. Elaboration de modèles mathématiques

I.5.1.1. Principe de la modélisation

Les méthodes statistiques expérimentales sont généralement utilisées pour prédire des processus quelconques qui ne peuvent être décrits par des modèles théoriques fondés sur des lois physiques. Le processus est alors considéré comme une boîte noire.

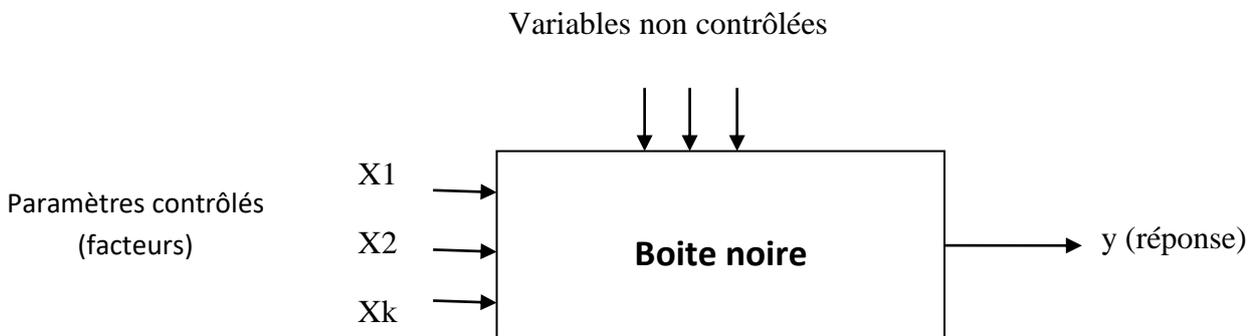


Figure I.12 : Représentation d’un processus.

Les variables indépendantes X_1, X_2, \dots, X_k à l’entrée sont appelées « facteurs». La ou (les) variable(s) de sortie y est (sont) appelée(s) « réponse(s)».

La modélisation permet de décrire les variations de y caractérisant les résultats d’une expérience en fonction des variables d’entrées X_1, X_2, \dots, X_k modifiés au cours des essais suivant un plan d’expérience.

$$Y = f(X_1, X_2, \dots, X_k) \tag{I.2}$$

Les modèles empiriques, classiquement utilisés, sont des modèles polynomiaux de degré généralement inférieur ou égal à 2.

$$y = \beta_0 + \sum_{j=1}^k \beta_j x_j + \sum_{\substack{u,j=1 \\ u \neq j}}^k \beta_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k \beta_{jj} X_j^2 + e \tag{I.3}$$

Sous forme matricielle, l'équation (I.9) peut s'écrire comme suit :

$$Y = BX + e \tag{I.4}$$

Dans le processus réel, il existe toujours des variables qui ne peuvent être ni contrôlées ni commandées ; chaque mesure est alors entachée d'une erreur expérimentale par conséquent les réponses présentent un caractère aléatoire.

L'emploi des principes d'analyse de la régression permet de trouver, lors du traitement des données expérimentales, les coefficients b_0, b_j, b_{uj} ; b_{jj} dits coefficients de régression. Ils constituent des approximations des coefficients théoriques $\beta_0, \beta_j, \beta_{uj}, \beta_{jj}$.

L'équation de régression obtenue s'écrira donc :

$$\hat{y} = b_0 + \sum_{j=1}^k b_j X_j + \sum_{\substack{u,j=1 \\ u \neq j}}^k b_{uj} X_u X_j + \sum_{j=1}^k b_{jj} X_j^2 + \dots \tag{I.5}$$

b_0 : Terme constant de l'équation de régression.

b_j : Effets linéaires.

b_{uj} : Effets d'interaction.

b_{jj} : Effets quadratiques.

La valeur expérimentale y_i diffère de la valeur \hat{y}_i prédite par le modèle d'une quantité e_i appelée résidu d'ordre i observé lors de la réalisation de la i ème expérience :

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \tag{I.6}$$

Nous faisons l'hypothèse de la régression multilinéaire qui pour tout i , les résidus e_i sont des variable aléatoires de moyenne nulle, $E(e_i)=0$ et de même variance σ^2 .

Nous supposons aussi que pour toute expérience i , les valeurs des indépendantes d'entre x_i sont connues sans erreur.

Les coefficients estimés minimisent la somme des carrés des résidus (hypothèse des moindres carrés).

$$L = \sum_1^N ei^2 \text{ Minimum} \tag{I.7}$$

N est l'étendue de l'échantillon (ou nombre d'essais).

Pour comparer les effets des variables réelles Z_j sur la réponse, nous utilisons généralement des variables centrées réduites (ou variable codées) x_j.

La formule qui permet le passage d'un système de coordonnées Z₁, Z₂, ...Z_k au nouveau système X₁, X₂,...X_k dont les variables sont sans dimension s'écrit :

$$X_j = \frac{Z_j - Z_j^0}{\Delta Z_j} \quad \text{Avec} \quad j = 1, 2, \dots, k, \tag{I.8}$$

On a pour tout facteur :

$$Z_j^0 = \frac{Z_j^{max} + Z_j^{min}}{2} \quad \text{et} \quad \Delta Z_j = \frac{Z_j^{max} - Z_j^{min}}{2\alpha}$$

Z_j⁰ est la coordonnée du point central dans l'intervalle [-1 +1] exprimée en unité réelle de mesure.

Δ Z_j est l'intervalle de variation suivant l'axe des Z_j.

I.5.1.2. Calcul des coefficients du modèle

Les coefficients du modèle, lors du traitement des résultats expérimentaux, sont déterminés par la régression multilinéaire basée sur le critère des moindres carrés ou la somme des carrés des résidus doit être minimale.

L'expression matricielle de la colonne B des coefficients des modèles polynomiaux s'écrit :

$$B = (X^t X)^{-1} X^t Y \tag{I.9}$$

X^t est la transposée de la matrice de calcul X

Y est la matrice colonne des réponses

Cette relation est fondamentale, nous verrons que sa forme est simplifiée dans le cas où la matrice x est orthogonale ; si N est le nombre d'essais, B s'écrit alors :

$$B = \frac{1}{N} X^t Y \tag{I.10}$$

I.5.1.3. Test de signification des coefficients du modèle

La signification des coefficients est étudiée par le test de Student. Les valeurs des t_j sont calculées par l'expression suivante :

$$t_j = \frac{b_j}{S_{b_j}} \quad (\text{I.11})$$

b_j est le $j^{\text{ème}}$ coefficient de l'équation de régression ; S_{b_j} est son écart quadratique moyen. La variance de reproductibilité S_{rep}^2 des essais est indispensable pour estimer la signification des coefficients.

$$S_{\text{rep}}^2 = \frac{\sum_1^{N_0} (y_{0i} - \bar{y}_0)^2}{(N_0 - 1)} \quad (\text{I.12})$$

y_{0i} et N_0 représentent respectivement la réponse et le nombre de points au centre du domaine.

La variance des coefficients du modèle est donnée par :

$$S_{b_j}^2 = C_{jj} S_{\text{rep}}^2 \quad (\text{I.13})$$

C_{jj} sont les éléments diagonaux de la matrice variance – covariance $(X^t X)^{-1}$.

Si la matrice X est diagonale,
$$C_{jj} = \frac{1}{N} \quad (\text{I.14})$$

N est le nombre d'essais.

Si la valeur t_j est supérieure à la valeur t_α (f) lue sur la table de student correspondant au risque $\alpha = 5\%$ pour un nombre de degré de liberté $f = N_0 - 1$ alors le coefficient b_j est significativement différent de zéro. Les coefficients non significatifs sont exclus de l'équation du modèle.

I.5.1.4. Test de validité du modèle

Le test de Fisher consiste à comparer la variance résiduelle S_{res}^2 à la variance expérimentale estimée par la variance de reproductibilité S_{rep}^2 .

$$F = \frac{S^2_{res}}{S^2_{rep}} \quad (I.15)$$

$$S^2_{res} = \frac{\sum ei^2}{N-p} = \frac{E^t E}{N-P} \quad (I.16)$$

E est la matrice des résidus ;

E^t est la matrice transposée de E ;

P : nombre de coefficients significatifs de l'équation du modèle.

Pour vérifier si la différence est significative, il faut d'abord lire dans la table de Fisher la valeur F α (f1, f2) correspondant au risque $\alpha=5\%$ pour f1 =N-p et f2=N0-1 degrés de libertés.

Si F calculé est inférieure à F α (f1, f2) cela signifie que la différence entre les deux variances est petite c'est-à-dire les variances sont homogènes : la variance résiduelle est aussi aléatoire et le modèle est sans biais.

I.5.1.5. Test de signification globale de la régression

On teste la signification de la régression en comparant cette fois-ci la variance due à la régression à la variance résiduelle.

$$F = \frac{S^2_{reg}}{S^2_{res}} \quad (I.17)$$

$$\text{Avec } F = \frac{\hat{B}^t X^t Y}{E^t E} * \frac{N-P}{P} \quad (I.18)$$

$\hat{B} X^t Y = \hat{Y}^t \hat{Y}$ représente le manque d'ajustement dû au modèle

\hat{B} est la matrice des réponses estimées par le modèle.

On lit sur la table de Fisher la valeur F α (f1, f2) correspondant au risque $\alpha=5\%$ pour f1 =p et f2=N- p degrés de libertés.

Si la valeur calculée de F est nettement supérieure à celle de la table, alors la régression est significative : c'est-à-dire que les variables retenues pour la modélisation ont dans leur ensemble un effet significatif sur la réponse.

I.5.1.6. Coefficient de corrélation R^2

Pour apprécier la précision de l'équation de régression, on calcule le coefficient de détermination R^2 qui représente le taux de corrélation entre les réponses calculées par la régression et celles mesurées

$$R^2 = \frac{\hat{Y}^t \hat{Y} - \bar{Y}^t \bar{Y}}{Y^t Y - \bar{Y}^t \bar{Y}} \quad (\text{I.19})$$

\bar{Y} est la moyenne des réponses mesurées.

\hat{Y} est la moyenne des réponses prédites.

Chapitre II

Matériels et méthodes

Ce chapitre présente l'ensemble des réactifs, du matériel et des méthodes analytiques utilisés au cours de ce travail.

II.1. Matières végétales

Nous avons utilisé 7 plantes aromatiques commercialisées en ALGERIE, on les trouve sur le marché local (ville de BEJAIA) dans des sachets portant le nom TACHFINE (menthe, basilic, origan, laurier, persil, ciboulette, thym) sous forme feuille.

II.2. Matériels et réactifs :

- Des boîtes de pétri;
- Verre de montre;
- Spatule et micro-spatule;
- Balance électronique;
- Fioles de 25ml, 50ml, 100ml et 250ml;
- Pipette ;
- Becher 25ml, 50ml;
- Papier aluminium;
- Parafilm;
- Papier absorbant;
- Papier filtre
- Pissette;
- Entonnoir;
- Dessiccateur;
- Etuve;
- Micropipette;
- Thermomètre ;

II.3. Appareillage et logiciels utilisés

Les appareils et logiciels utilisés sont:

- Excel 2007 et MATLAB R2014 pour les calculs et le traitement des résultats ;

- Le spectrophotomètre «EVOLUTION 220, Thermo SCIENTIFIC » couplé avec un micro-ordinateur en utilisant des cuves en quartz de 1cm de trajet optique, pour le tracé des spectres d'absorption des extraits de plantes et pour le tracé des spectres d'absorption des polyphénols totaux et flavonoïdes ;
- Une plaque chauffante (Kika ®, werke).
- Un pH-mètre (HANNA) ;
- Un Conductimètre ;
- Une balance électronique (OHAUS) ;

II.4. Réactifs :

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences sont rassemblés dans le **Tableau II.1** ci-dessous :

Tableau II.1 : Réactifs utilisés

| Réactif | Masse molaire (g/mole) | Pureté (%) | Formule chimique |
|--------------------------------------|-------------------------------|-------------------|---|
| Trichlorure d'aluminium hexa hydraté | 241,33 | 100 | AlCl ₃ , 6H ₂ O |
| Carbonate de sodium | 105,99 | 99,8 | Na ₂ CO ₃ |
| Réactif de Folin-Ciocalteu | / | / | / |
| Méthanol | 32,04 | 99 | CH ₄ O |
| Acide gallique | 118,14 | / | C ₇ H ₆ O ₅ , H ₂ O |
| Quercétine | 302,24 | 95 | C ₁₅ H ₁₀ O ₇ |
| DPPH | 394,32 | 90 | C ₁₈ H ₁₂ O ₆ |

II.5. Eaux utilisées

Nous avons utilisé l'eau distillée pour le rinçage du matériel, pour la préparation des solutions et les dosages. Pour l'analyse des minéraux nous avons utilisée l'eau pure.

II.6. Séchage

A fin de se débarrasser de l'humidité, les plantes sont mises dans une étuve à 50°C jusqu'à obtenir une masse constantes. La température de 50°C permet de préserver de la dégradation des substances thermolabiles telles que certains polyphénols et vitamines.

II.7. Broyage

Une fois séchées, les feuilles des plantes étudiées subissent un broyage à l'aide d'un broyeur à vide électrique de marque RETSCH, jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène. Cette dernière est tamisée à l'aide d'un tamiseur, contenant des mailles granulométrie de 80µm. Les poudres obtenues sont conservées dans des boîtes de pétri et stockées à l'abri de la lumière dans un dessiccateur pour les protéger contre l'humidité.

A chaque analyse nous prenons du dessiccateur la quantité de poudre voulue.

II.8. Préparation des solutions

➤ Solution de Folin Ciocalteu diluée

Un volume de 1 ml de FC est additionné avec 9 ml d'eau distillé .stocké à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur.

➤ Solution de chlorure d'Aluminium hexa hydraté

$\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à (2 %) : On verse dans une fiole de 100 ml une masse de 3,62 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg) de chlorure d'aluminium, sous la hotte on ajoute une quantité de méthanol et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

➤ Solution de carbonate de sodium (à 7,5 %) :

On verse dans une fiole de 100 ml une masse de 7,5 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg) de carbonate de sodium, on ajoute une quantité d'eau distillé et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

II.9. Extraction par infusion

Nous avons procédé le même protocole pour toutes les plantes ainsi que trois essais ont été effectués pour chaque plante

On pèse une masse (mg) de la plante qui varie selon notre matrice à l'aide d'une balance. On chauffe une quantité d'eau distillée (200 ml) dans un erlenmeyer jusqu'à une température

indiquer dans la matrice. On introduit la masse pesée dans un autre erlenmeyer (200 ml) et on ajoute l'eau chauffée, on laisse en contact pendant un temps bien déterminé à l'abri de la lumière, le temps est contrôlé à l'aide d'un chronomètre.

On filtre la liqueur en utilisant un filtre. On laisse refroidir jusqu'à température ambiante. A la fin de l'extraction, les liqueurs sont analysées par l'UV visible.

II.10. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

II.10.1. Dosage des polyphénols

➤ Principe :

L'estimation quantitative des polyphénols est réalisée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu. Ce réactif est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène [69] (**figure II.1**). La coloration bleue produite, présente un maximum d'absorption aux environs de 760 nm dans l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [70].

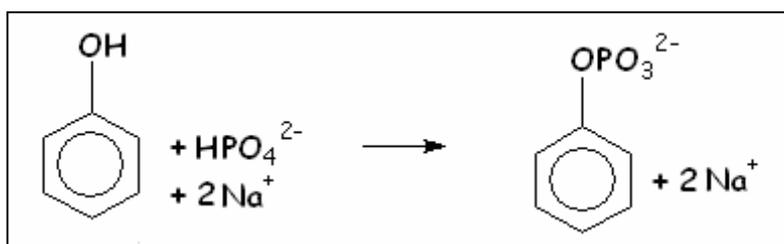


Figure II.1 : Principe de la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu [71].

➤ Mode opératoire :

1 ml d'extrait dilué (3 fois) sont mélangés avec 1 ml du réactif FC et 0,8 ml de Na_2CO_3 à 7 (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité. Après 30 minutes de repos à température ambiante, on mesure l'absorbance à l'aide du spectrophotomètre à une longueur d'onde de 760 nm. La teneur en composés phénolique est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en gramme équivalent d'acide gallique (Gal) par 100 gramme de matière sèche g EQ/100g MS [72].

Les étapes de cette quantification sont résumées dans la **figure II.2**.

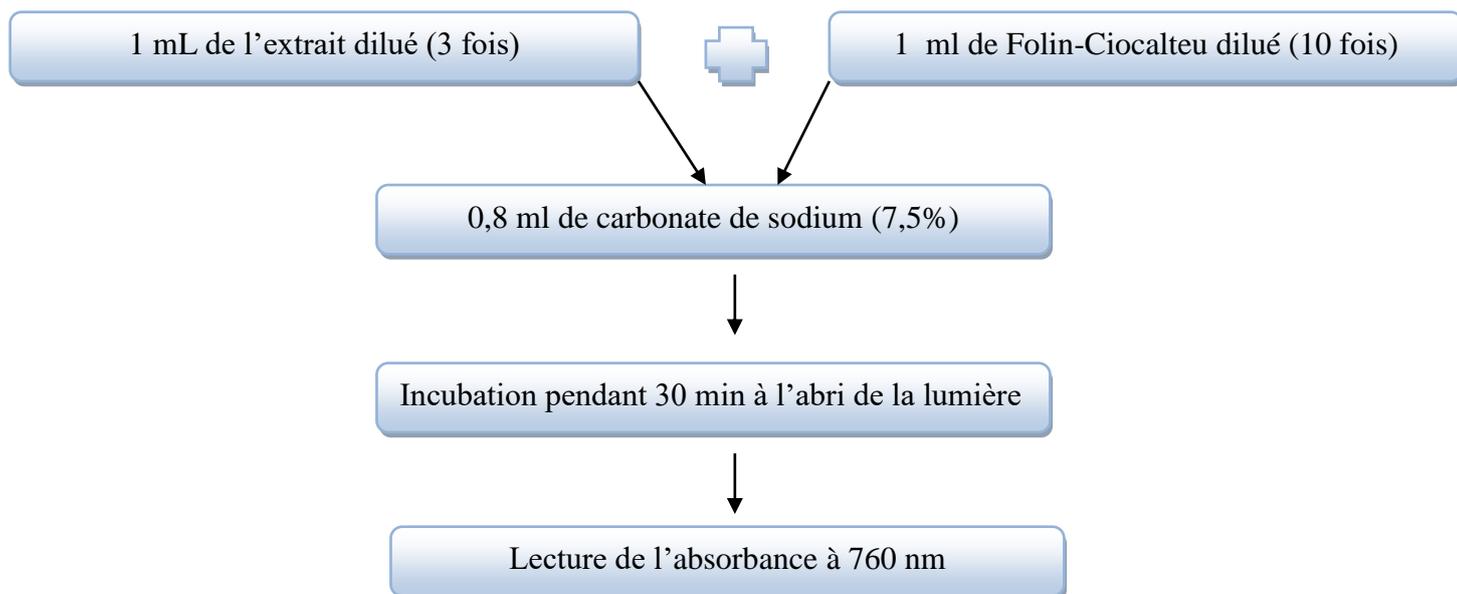


Figure II.2 : Schéma représentatif du protocole de dosage des polyphénols.

➤ **Préparation du blanc**

1 ml d'eau distillé a été mélangé avec 1 ml du réactif FC et 0,8 ml de Na₂CO₃ à 7,5 (m/v). Le mélange est agité et incubé à l'obscurité et à température ambiante pendant 30 minutes.

➤ **Courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

Une courbe d'étalonnage (à 760nm) est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

➤ **Préparation de la solution mère d'acide gallique mono hydraté (C₇H₆O₅, H₂O)**

A l'aide d'une balance, on pèse 0,0236 g de l'acide gallique, versée dans une fiole de 50 ml, on y rajoute une quantité d'eau distillé et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

➤ **Préparation des étalons**

A partir de la solution mère (4.10⁻⁴ g/ml) d'acide gallique nous avons préparées 11 étalons de différentes concentrations dans des fioles de 25 ml.

D'après la loi de dilution :

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

$$(4.10^{-4}) \times V1 = 25 \times C2$$

$$C2 = (4 \times 10^{-4}) \times V1 / 25$$

Tableau II.2: concentration des étalons pour l'acide gallique.

| | | | | | | | | | | | |
|----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| C (10 ⁻² mg/ml) | 0,08 | 0,16 | 0,24 | 0,32 | 0,4 | 0,48 | 0,56 | 0,64 | 0,72 | 0,88 | 0,96 |
| V (ml) | 0,05 | 0,1 | 0,15 | 0,2 | 0,25 | 0,3 | 0,35 | 0,4 | 0,45 | 0,55 | 0,6 |

➤ **Dosage des étalons**

Nous avons procédé au dosage de ces étalons en suivant le même protocole de dosage précédemment, nous avons établi la courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en mesurant les absorbances des différents étalons dosés à la longueur d'onde 760 nm.

➤ **Calcul de la teneur en polyphénols**

Les extraits sont préparés en ajoutant 0,08g de la matière sèche à 200 ml d'eau distillée, donc une concentration de :

$$[MS] = \frac{0,08g \text{ MS}}{200 \text{ ml}} = 4.10^{-4} \text{ g MS/ml eau}$$

Après lecture de l'absorbance à 760nm, on calcule la concentration des PT en mg équivalent AG/ml à partir de l'équation de la droite d'étalonnage obtenue.

$$[PT] = X \text{ (mg EAG / ml)}$$

La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \frac{X}{0,0004} = 2500 X \text{ (mg EAG/g MS)}$$

La teneur en polyphénols est exprimée en g équivalent d'acide gallique par 100g de matière sèche

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \left[\frac{X}{0,0004} \right] \times 0,1 = 250 X \text{ (g EAG/100g MS)}$$

X : concentration des étalons en AG dans les liqueurs des plantes (g EAG/100g MS).

II.10.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium [72].

Les flavonoïdes contiennent certains groupements structuraux susceptibles de former par chélation des complexes jaunâtres avec les métaux notamment le fer et l'aluminium. L'ion métallique intervenant dans la formation de complexe sous forme de M^{++} s'uni a des oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électron [73] **figure II.3.**

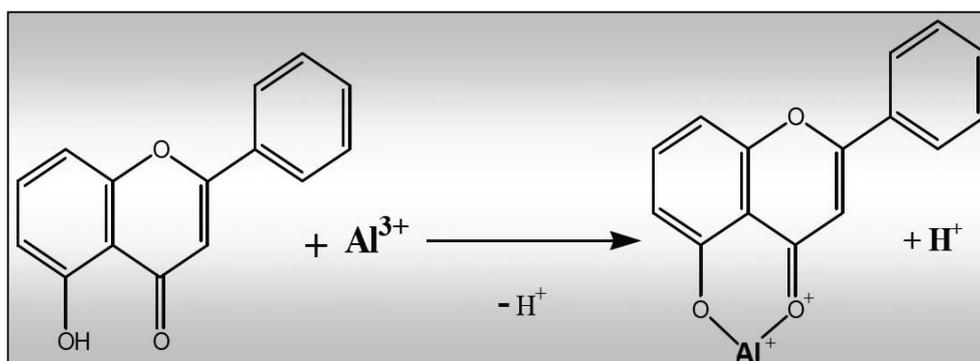


Figure II.3: Mécanisme de réaction du chlorure d'aluminium avec les flavonoïdes [73].

➤ Mode opératoire

La teneur en flavonoïdes totaux a été déterminée par la méthode de chlorure d'aluminium (AlCl₃).

La concentration en flavonoïdes est déterminée en se référant à une courbe d'étalonnage réalisée avec la quercétine. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalent quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

L'organigramme du dosage des flavonoides est présenté dans la **figure II.4.**

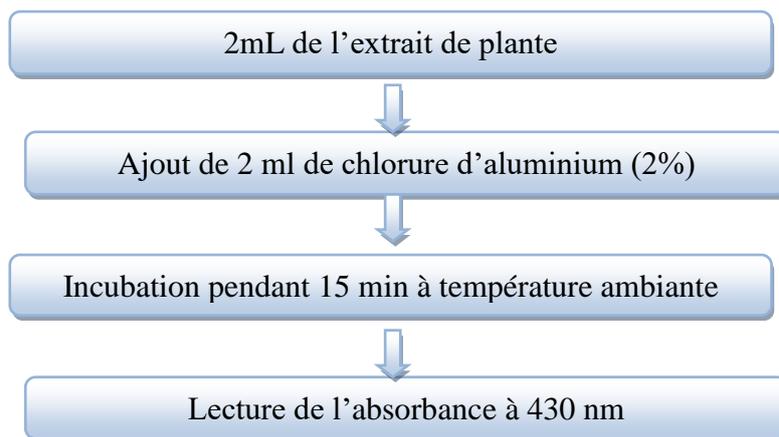


Figure II.4 : Schéma représentatif du protocole expérimental de dosage des flavonoïdes

➤ **Préparation du blanc**

2 mL de méthanol ont été ajoutés à 2 mL de la solution d' AlCl_3 (2% dans le méthanol).

➤ **Courbe d'étalonnage**

Comme pour le dosage des polyphénols, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires, à la longueur d'onde de 430 nm, en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

➤ **Préparation de la solution mère de quercétine**

0,028 g de la quercétine sont introduits dans une fiole de 50 ml, sous la hotte, on ajoute du méthanol et on agite jusqu'à dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

➤ **Préparation des étalons**

A partir de la solution mère ($5,6 \cdot 10^{-4}$ g/ml) de quercétine nous avons préparé des étalons de différentes concentrations dans des fioles de 25 ml.

Les volumes de solution mère (V_0) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$(5,6 \cdot 10^{-4}) \times V_1 = 25 \times C_2$$

$$C_2 = (5,6 \cdot 10^{-4}) \times V_1 / 25$$

$$C_0 = 2,24 \cdot 10^{-5} \times V_0$$

Tableau II.3: Concentration des étalons pour la quercétine.

| | | | | | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| C (10 ⁻² mg/ml) | 0,056 | 0,112 | 0,168 | 0,224 | 0,28 | 0,336 | 0,392 | 0,448 | 0,504 | 0,560 | 0,616 | 0,672 |
| V (ml) | 0,025 | 0,05 | 0,075 | 0,1 | 0,125 | 0,15 | 0,175 | 0,2 | 0,225 | 0,25 | 0,275 | 0,3 |

➤ **Dosage des étalons**

Nous avons réalisé un dosage de ces étalons de la même façon que pour les flavonoïdes totaux pour tracer la courbe d'étalonnage.

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent du quercétine par g de matière sèche

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \frac{X}{0.0004} = 2500 X \text{ (mg EQ/g MS)}$$

La teneur en flavonoïdes est exprimée en g équivalent du quercétine par 100g de matière sèche

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \left[\frac{X}{0,0004} \right] \times 0,1 = 250 X \text{ (g EQ/100g MS)}$$

X : concentration des étalons en Q dans les liqueurs des plantes (g EQ/100g MS).

II.11. Technique d'analyse

II.11.1. Analyse par Spectrophotométrie UV-Visible

Les analyses spectroscopiques UV-visible des extraits de plantes, des polyphénols totaux et des flavonoïdes de chaque échantillon de plantes ont été effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre «EVOLUTION 220, Thermo SCIENTIFIC » couplé avec un microordinateur, en utilisant des cuves en quartz de trajet optique de 1cm pour le tracé des spectres d'absorbances des extraits des plantes dans l'intervalle [200nm-400nm], pour les absorbances des dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes sont mesurés à 760nm, et à 430nm respectivement.



Figure II.7. Spectrophotomètre UV-visible.

II.12.2 Analyse ICP

On fait passer dans l'ICP tous les extraits d'infusion déjà préparées pour déterminer leur teneur en élément métalliques.

En a fait l'étude sur six différents épices qui sont : la menthe, basilic, origan, laurier, thym, persil, ciboulette.

➤ Préparation de l'extrait

A l'aide d'une balance on pèse 0,1 g de notre herbe, et on ajoute 200 ml de l'eau pure chauffée à 85°C, en laisse infusée pendant 15min à l'abri de lumière et à une température ambiante, on filtre l'extrait et on laisse refroidir avant de le passer à l'ICP.

II.13. Modélisation de la concentration des polyphénols et des flavonoïdes par les plans d'expériences

Afin d'étudier les effets et les interactions de certains paramètres influents sur le processus d'infusion des herbes aromatiques, nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences. Celle-ci permet de modéliser, d'optimiser et de tirer le maximum d'information sur le processus avec un minimum d'expériences. Le plan choisi pour réaliser nos expériences est un Plan Factoriel Complet à deux niveaux 2^3 avec interactions, complété par des points au centre du domaine de l'étude. Quand les tests de validation du modèle sont positifs, l'étude s'achève, sinon, des essais supplémentaires sont entrepris pour établir un modèle de second degré. Les paramètres retenus pour cette étude sont : le rapport volumique, la température de chauffage et le temps d'infusion. La réponse à modéliser est la concentration des polyphénols et les flavonoïdes (g EAG/100 g MS).

II.13.1. Intervalle des facteurs

Tableau II.4 : Domaine d'étude de plans étudiés.

| Paramètres opératoires | Notation | $-\alpha$ -1,68 | Niveau -1 | Niveau 0 | Niveau +1 | α 1,68 |
|---------------------------------------|----------|--------------------|--------------|-------------|--------------|------------------|
| Concentration massique (mg MS/mL eau) | Z1 | 0,332 | 0,4 | 0,5 | 0,6 | 0,668 |
| La température d'infusion (C°) | Z2 | 45 | 55 | 70 | 85 | 95,2 |
| Le temps d'infusion (min) | Z3 | 1,6 | 5 | 10 | 15 | 18,4 |

II.13.2. Matrice des expériences

Vingt expériences de compositions variables ont été préparées selon la matrice des expériences présentées dans le **tableau II.5** :

Tableau II.5: Matrice des expériences pour N = 20

| N° d'essai | Z1 (mg MS/mL eau) | Z2 (C°) | Z3 (min) | X1 | X2 | X3 |
|------------|-------------------|---------|----------|----|----|----|
| 1 | 0,08 | 55 | 5 | -1 | -1 | -1 |
| 2 | 0,12 | 55 | 5 | 1 | -1 | -1 |
| 3 | 0,08 | 85 | 5 | -1 | 1 | -1 |
| 4 | 0,12 | 85 | 5 | 1 | 1 | -1 |
| 5 | 0,08 | 55 | 15 | -1 | -1 | 1 |
| 6 | 0,12 | 55 | 15 | 1 | -1 | 1 |
| 7 | 0,08 | 85 | 15 | -1 | 1 | 1 |
| 8 | 0,12 | 85 | 15 | 1 | 1 | 1 |
| 9 | 0,1 | 70 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | 0,1 | 70 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | 0,1 | 70 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| 12 | 0,1 | 70 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| 13 | 0,1 | 70 | 10 | 0 | 0 | 0 |

| | | | | | | |
|----|--------|------|------|-----------|-----------|-----------|
| 14 | 0,1 | 70 | 10 | 0 | 0 | 0 |
| 15 | 0,0664 | 70 | 10 | $-\alpha$ | 0 | 0 |
| 16 | 0,1336 | 70 | 10 | $+\alpha$ | 0 | 0 |
| 17 | 0,1 | 45 | 10 | 0 | $-\alpha$ | 0 |
| 18 | 0,1 | 95.2 | 10 | 0 | $+\alpha$ | 0 |
| 19 | 0,1 | 70 | 1,6 | 0 | 0 | $-\alpha$ |
| 20 | 0,1 | 70 | 18,4 | 0 | 0 | $+\alpha$ |

II.13.3. Estimation des coefficients du modèle [67]

Le modèle mathématique associé au plan choisi, est un modèle linéaire du premier degré avec interactions :

$$\hat{y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$$

Où: \hat{y} est la réponse estimée x_1, x_2, x_3 sont les variables centrées réduites correspondant respectivement aux variables réelles Z_1, Z_2, Z_3

b_0 est la valeur moyenne de la réponse ;

b_1, b_2, b_3 sont les effets linéaires ;

b_{12}, b_{13}, b_{23} sont les effets d'interaction doubles ;

b_{123} est l'effet d'interaction triple.

Les coefficients de l'équation de régression b_j sont obtenus par le produit scalaire de la colonne y par les colonnes x_j correspondantes divisés par le nombre d'expériences N .

II.14. Piégeage du radical libre DPPH

- **Principe :**

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazil) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense [74]. Ce radical perd sa coloration native quand se lie avec des substances anti oxydantes (AH) qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune [74]. Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents.

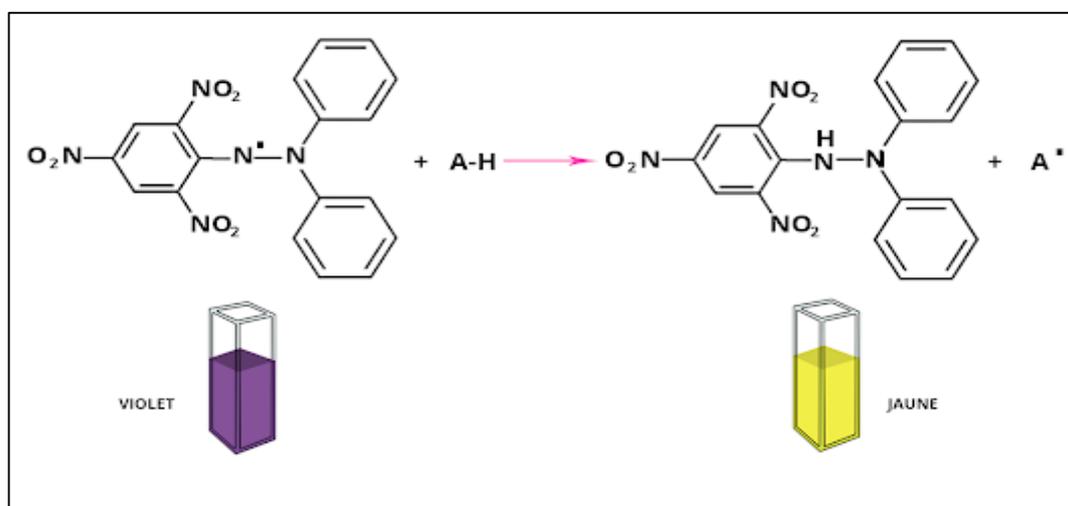


Figure II.5. Réaction d'une structure polyphenolique avec le radical DPPH [74].

[AH] : PT, FT.

- **Mode opératoire**

La détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH a été effectuée selon la méthode décrite par Burits et Bucar [77,78].

Le protocole utilisé pour la détermination de pourcentage d'inhibition du radical DPPH est illustré dans la **figure II.6**.

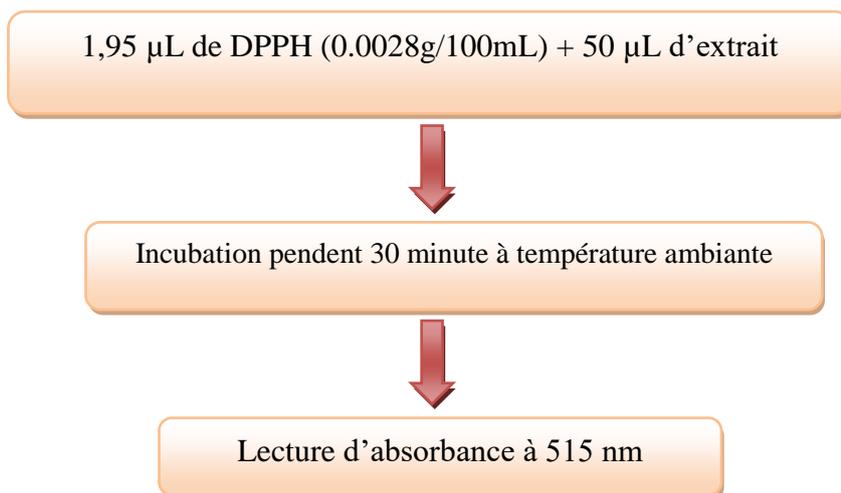


Figure II.6 : protocole utilisé pour la détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH [76].

Le pourcentage de neutralisation du radical de DPPH est calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = [(Abs\ témoin - Abs\ échantillon) / Abs\ témoin] * 100$$

Abs témoin : absorbance du témoin (DPPH)

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon préparée (50µl d'extrait + 1,95 mL DPPH).

Calcul des IC50

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées [77,79].

Chapitre III Résultats et Discussions

III.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en g équivalent d'acide gallique par 100 gramme de matière sèche (g EAG/100gMS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique déterminée à la **figure III.1**.

❖ Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Tableau III.1 : Les absorbances correspondantes aux étalons de l'acide gallique.

| | | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| C (10 ⁻² mg/ml) | 0,08 | 0,1 | 0,16 | 0,24 | 0,32 | 0,4 | 0,48 | 0,5 | 0,56 | 0,64 | 0,72 | 0,88 |
| A | 0,0535 | 0,0706 | 0,1263 | 0,1448 | 0,1677 | 0,2487 | 0,2531 | 0,3154 | 0,3000 | 0,3110 | 0,3206 | 0,3905 |

| | | | | |
|--------|--------|---------|--------|--------|
| 0,96 | 1 | 1,28 | 1,44 | 1,76 |
| 0,4380 | 0,4903 | 0,62455 | 0,6460 | 0,8052 |

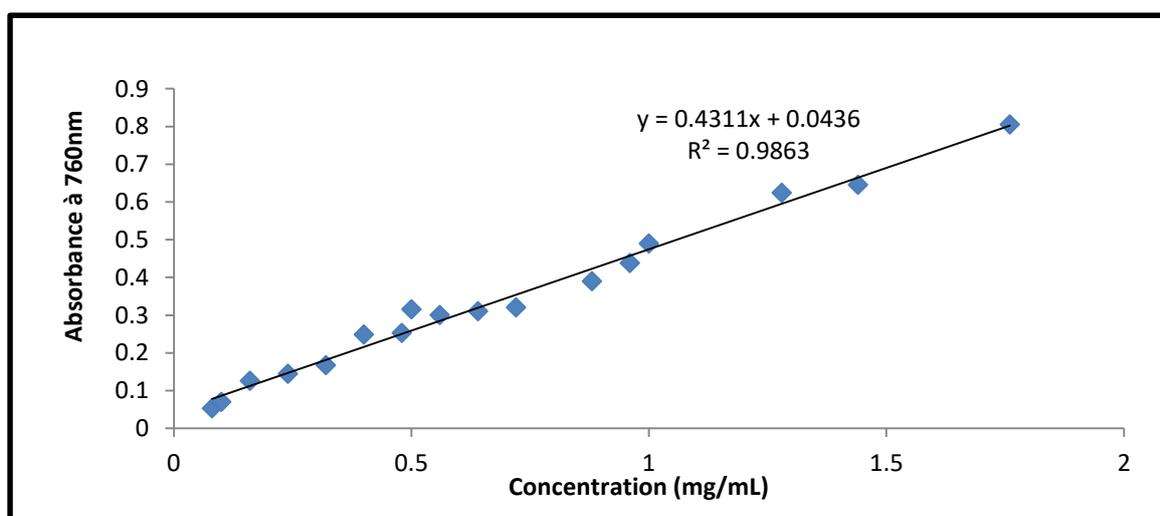


Figure III.1: Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

III.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

La détermination de la teneur en flavonoïdes dans les extraits d'infusion des épices étudiées, est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

Les résultats obtenus sont exprimés en g équivalent quercétine par 100 gramme de matière sèche (g EQ/100gMS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la quercétine selon la **Figure III.2**.

❖ Courbe d'étalonnage

Tableau III.2 : Les absorbances correspondantes aux étalons de la quercétine.

| | | | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| C 10 ⁻² mg/ml | 0,12 | 0,168 | 0,179 | 0,224 | 0,28 | 0,336 | 0,392 | 0,448 | 0,504 | 0,56 | 0,616 | 0,672 |
| A | 0,0213 | 0,065 | 0,118 | 0,127 | 0,104 | 0,149 | 0,209 | 0,201 | 0,263 | 0,260 | 0,246 | 0,283 |

| | | |
|-------|-------|-------|
| 0,896 | 1,792 | 2,24 |
| 0,669 | 1,077 | 1,354 |

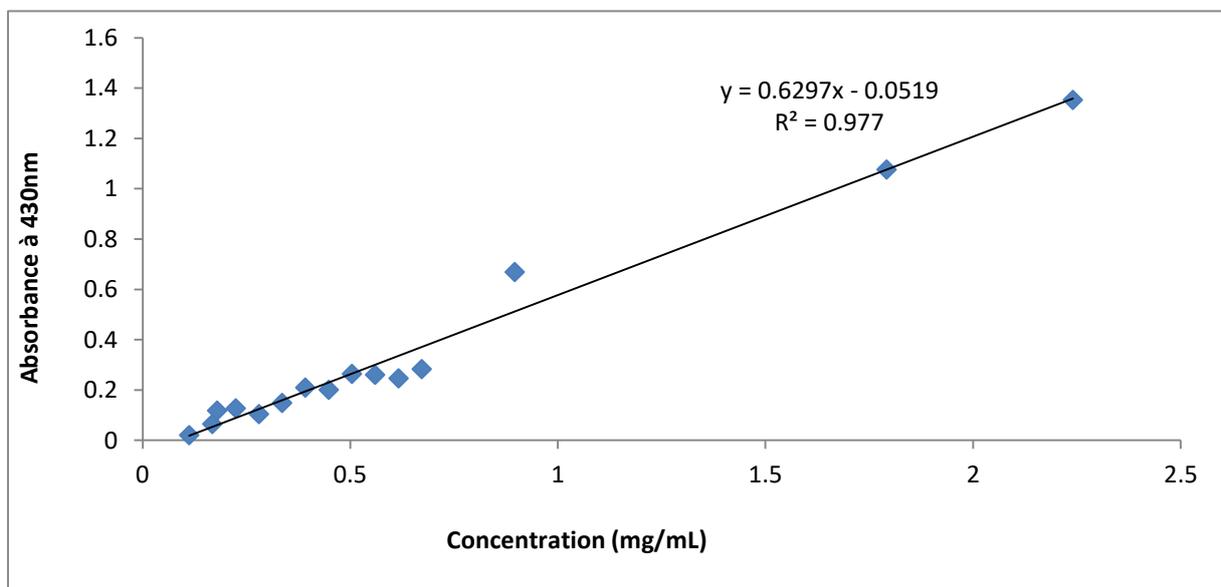


Figure III.2: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

III.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences

III.2.1. Elaboration du modèle du premier degré

Les paramètres opératoires (Z1, Z2, Z3) considérés pour la modélisation de la concentration des polyphénols et des flavonoïdes, produits de l'infusion de la menthe sont donnés dans le tableau ci-après. Dans notre cas, le nombre N de combinaisons possibles des trois facteurs (k=3) sur deux niveaux est égal à $2^3 = 08$ et compléter avec 06 essais au centre du domaine.

Tableau III.3 : Matrice des expériences du plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 .

| Essai n° | X ₁ (m) | X ₂ (T) | X ₃ (t) | Y (Réponse) | |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|
| | | | | TPT (g EAG/100 g MS) | TFT (g EQ/100 g MS) |
| 1 | - | - | - | 6,2282 | 0,9973 |
| 2 | + | - | - | 5,6582 | 0,5259 |
| 3 | - | + | - | 9,8444 | 1,5142 |
| 4 | + | + | - | 5,4912 | 0,8078 |
| 5 | - | - | + | 8,4685 | 1,124 |
| 6 | + | - | + | 5,6627 | 0,7184 |
| 7 | - | + | + | 9,8128 | 0,6209 |
| 8 | + | + | + | 8,0524 | 0,6158 |

Tableau III.4 : Matrice des essais des points au centre.

| Essai n° | X ₁ (m) | X ₂ (T) | X ₃ (t) | Y ₀ (Réponse) | |
|----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|--------|
| | | | | TPT | TFT |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 7,853 | 0,863 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 8,925 | 0,816 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 7,457 | 0,711 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 7,618 | 0,684 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 8,365 | 0,7635 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 8,555 | 0,7213 |

❖ **Test de signification des coefficients :****Tableau III.5 :** Valeurs et signification des coefficients du modèle.

| Coeff | Polyphénols totaux | | | | T tabulé f=N ₀ -1=5- α/2=0975 | Flavonoïdes totaux | | | |
|-------------------|--------------------|------------|--------------|----------------|--|--------------------|------------|--------------|----------------|
| | Valeur | Ecart-type | t de student | Coeff Non Sign | | Valeur | Ecart-type | t de student | Coeff Non sign |
| b ₀ | 7,402 | | 36,348 | S | 2,571 | 0,865 | | 35,819 | S |
| b ₁ →m | -1,186 | | 5,284 | S | | -0,198 | | 8,216 | S |
| b ₂ →T | 0,898 | | 4,409 | S | | 0,024 | | 0,999 | NS |
| b ₃ →t | 0,597 | | 2,93 | S | | -0,096 | | 3,964 | S |
| b ₁₂ | 0,342 | 0,2036 | 1,68 | NS | | 0,0206 | 0,0241 | 0,855 | NS |
| b ₁₃ | 0,045 | | 0,219 | NS | | 0,096 | | 3,968 | S |
| b ₂₃ | 0,0355 | | 0,1747 | NS | | -0,175 | | 7,265 | S |
| b ₁₂₃ | 0,603 | | 2,964 | S | | 0,079 | | 3,287 | S |

S : significatif ; NS : non significatif, coeff : coefficients

Du point de vue statistique, le test de Student est requis pour estimer les coefficients du model

❖ **Interprétation du modèle mathématique des polyphénols**

$$Y=7,4023-1,1862*X_1+0,8979*X_2+0,5968*X_3+0,6036X_1*X_2*X_3$$

➤ **Effet linéaire**

Les résultats de la présente étude, montrent que deux facteurs (X2, X3) possèdent une influence significative sur l'extraction des polyphénols de la menthe étudiés. Les facteurs, températures

(X2) et le temps d'extraction (X3) influencent significativement avec des coefficients d'estimation positifs de l'ordre de 0,8979 ; 0,5968, respectivement.

Le facteur, concentration massique (X1), influence lui aussi significativement avec un coefficient d'estimation négatif de l'ordre de -1,1862.

➤ Effet Interaction

Les résultats obtenus indiquent que l'interaction triple (masse – temps- température) est significative sur l'extraction des polyphénols de la menthe, avec un coefficient d'estimation positif de l'ordre de (+ 0,6036).

❖ Interprétation du modèle mathématique des flavonoïdes

$$Y = 0,8655 - 0,198 * X_1 - 0,096 * X_3 + 0,0959 * X_1 * X_3 - 0,1756 * X_2 * X_3 + 0,0794 * X_1 * X_2 * X_3$$

➤ Effet linéaire

Nous remarquons que :

- Le nombre de coefficients significatifs est égal à 6
- Les deux paramètres étudiés (masse, température) ont un effet négatifs sur la réponse
- L'effet de la (concentration masse) sur la réponse est le plus important (0,19854).
- L'effet du paramètre (température) est nul.

➤ Effet Interaction

Les résultats obtenus indiquent que l'interaction (masse – temps) est significative sur l'extraction des flavonoïdes de la menthe, avec un coefficient d'estimation positif de l'ordre de (+0,0958), tandis que l'interaction (temps – température) a un effet négatif sur l'extraction de l'ordre de (-0,175).

Tableau III.6 : Analyses des variances (recherche de biais).

| | Polyphénols | | Flavonoïdes | |
|---|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|
| | Variance résiduelle | Variance reproductible | Variance résiduelle | Variance reproductible |
| Somme des carrés | 0,9630 | 1,6590 | 0,0081 | 0,0234 |
| Degré de liberté | 3 | 5 | 2 | 5 |
| Carré moyenne | 0,3210 | 0,3318 | 0,0040 | 0,0046 |
| F1 (fischer-senedecor) | 0,9675 | | 0,8650 | |
| F _{tabulé} p=0.95, f ₁ =N-p, f ₂ =N-1=5 | 5,41 | | 5,79 | |

La valeur $F1_{\text{calculé}}$ de Fisher est inférieure à la valeur tabulée ; les variances résiduelles et de reproductibilité sont donc statistiquement égales : l'erreur d'ajustement entre le modèle réel et le modèle estimé est négligeable devant l'erreur expérimentale, par conséquent, l'équation du modèle prédit est valide et ajuste bien les données expérimentales.

❖ **Test de la signification globale de la régression****Tableau III.7** : Analyse des variances (signification de la régression)

| | Polyphénols | | Flavonoïdes | |
|---|-------------|---------------------|-------------|---------------------|
| | Régression | Variance résiduelle | Régression | Variance résiduelle |
| Somme des carrés | 461,826 | 0,963 | 6,753 | 0,0081 |
| Degré de liberté | 5 | 3 | 6 | 2 |
| Carré moyenne | 92,365 | 0,321 | 1,125 | 0,004 |
| F2 (Fischer-Snedecor) | 287,74 | | 278,51 | |
| F _{tabulé} p=0.95, f ₁ =p, f ₂ =N-p | 9,01 | | 19,3 | |

Comme $F_{2\text{calculé}}$ est nettement supérieur à $F_{2\text{tabulé}}$, la régression est significative ; les variables retenus pour la modélisation ont dans leur ensemble un effet significatif sur le processus d'infusion des polyphénols et des flavonoïdes contenues dans l'extrait de la menthe.

III.2.2. Elaboration du modèle de second degré des polyphénols totaux extraits de la menthe

Pour élaborer le modèle de second degré, on conserve les résultats des essais du plan factoriel complet avec interactions y compris les résultats des essais effectués au centre du domaine d'étude et on réalise les expériences complémentaires qui nécessitent des points en étoile. Les valeurs des paramètres de ces essais complémentaires sont regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau III.8: Matrice des essais 2ème degré.

| Essais n° | X ₁ (C) | X ₂ (T) | X ₃ (t) | Y |
|-----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|---------------------|
| | | | | TPT(g EAG/100 g MS) |
| 1 | - | - | - | 6,228 |
| 2 | + | - | - | 5,658 |
| 3 | - | + | - | 9,844 |
| 4 | + | + | - | 5,492 |
| 5 | - | - | + | 8,468 |
| 6 | + | - | + | 5,663 |
| 7 | - | + | + | 9,812 |
| 8 | + | + | + | 8,052 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 7,853 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 8,925 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 7,457 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 7,618 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 8,365 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 8,555 |
| 15 | - α | 0 | 0 | 10,778 |
| 16 | + α | 0 | 0 | 8,309 |
| 17 | 0 | - α | 0 | 6,631 |
| 18 | 0 | + α | 0 | 5,777 |
| 19 | 0 | 0 | - α | 4,675 |
| 20 | 0 | 0 | + α | 5,516 |

❖ Test de signification des coefficients :

Tableau III.9 : Valeurs et signification des coefficients du modèle quadratique.

| coefficients | Polyphénols totaux | | | | T _{tabulé} f=N ₀ -1=5, 1-α/2=0,975 |
|--------------------|--------------------|------------|--------------|----------------|--|
| | valeur | Ecart-type | t de student | Coeff Non sign | |
| b ₀ | 8,1116 | 0,0552 | 34,53 | S | 2,571 |
| b ₁ → m | -0,9994 | 0,024 | 6,41 | S | |
| b ₂ → T | 0,4213 | 0,024 | 2,702 | S | |
| b ₃ → t | 0,4534 | 0,024 | 2,91 | S | |
| b ₁₂ | -0,342 | 0,041 | 1,680 | NS | |
| b ₁₃ | 0,045 | 0,041 | 0,22 | NS | |
| b ₂₃ | 0,035 | 0,041 | 0,175 | NS | |
| b ₁₁ | 0,6132 | 0,023 | 4,035 | S | |
| b ₂₂ | -0,5701 | 0,023 | 3,75 | S | |
| b ₃₃ | -0,9628 | 0,023 | 6,335 | S | |

S:significatif ; **NS**: non significatif, coeff : coefficients.

Le test de Student permet d'éliminer les coefficients non significatifs.

Après élimination des coefficients non significatifs, l'équation de régression décrivant la variation de la réponse (TPT) en fonction des différents paramètres significatifs.

Le modèle quadratique opté, pour la menthe, est représenté par l'équation :

$$Y=8,1116-0,9994*X_1+0,4213*X_2+0,4534*X_3+0,6132*X_1^2-0,5701*X_2^2-0,9628*X_3^2$$

Avec ce modèle, le calcul de toutes les réponses dans le domaine d'étude sera possible. Il suffit d'attribuer des valeurs aux niveaux X1, X2, X3 pour obtenir la teneur en polyphénols totaux.

Nous remarquons que :

- Le nombre de coefficients significatifs est égal à 7
- Les deux paramètres étudiés (temps et température) ont un effet positif sur la réponse
- Le paramètre (concentration massique) a un effet négatif sur la réponse.
- L'effet de la (concentration massique) sur la réponse est le plus important (0,9994).

➤ **Effet quadratique**

Les résultats obtenus, indiquent que les trois facteurs possèdent un effet quadratique sur l'extraction des polyphénols de la menthe étudié, à savoir : le temps d'extraction, la concentration massique et la température.

Le facteur X_2^2 (température – température) montre un effet significatif avec un coefficient négatif de l'ordre de (-0.5701).

L'effet quadratique X_3^2 (temps – temps) est significatif avec un coefficient négatif de l'ordre de (-0.9628).

Tableau III.10 : Analyses des variances (recherche de biais et signification globale de la régression).

| | Recherche de biais | | signification globale de la régression | |
|--|---------------------|------------------------|--|---------------------|
| | Variance résiduelle | Variance reproductible | Régression | Variance résiduelle |
| Somme des carrés | 11,89 | 1,659 | 1 ,164*10 ³ | 11,89 |
| Degré de liberté | 13 | 5 | 7 | 13 |
| Carré moyenne | 0,915 | 0,331 | 166,27 | 0,915 |
| F1 (fischer-senedecor) | 2,757 | | / | |
| F _{tabulé} p=0.95, f ₁ =N-p, f ₂ =N-1=5 | 4,68-4,62 | | | |
| F2 (fischer-senedecor) | / | | 181,78 | |
| F _{tabulé} p=0.95, f ₁ =p, f ₂ =N-p | | | 2,83 | |

❖ **Test de signification de la régression :**

La valeur calculée du test de Fisher $F=181,78$, alors que la valeur tabulée pour le niveau de signification $\alpha=0,05$ et les nombres de degrés de liberté $f_1 (\ell)=7$ et $f_2 (N-\ell)=13$ est de $2,83$ comme F calculé est supérieur à celui tabulé alors le modèle est significatif et valide à 95%.

❖ **Optimisation du processus d'extraction des polyphénols de la menthe**

L'exploitation du modèle prédictif obtenu, permet la recherche des valeurs optimales des paramètres opératoires conduisant au maximum de la teneur en PT. En effet, la résolution du système d'équation suivant nous donne les valeurs réelles de l'optimum :

$$\begin{cases} \frac{dy}{dX_1} = -0,9994 + 1,1264X_1 = 0 \\ \frac{dy}{dX_2} = 0,4213 - 1,1402X_2 = 0 \\ \frac{dy}{dX_3} = 0,4534 - 1,9256X_3 = 0 \end{cases} \longrightarrow \begin{cases} X_1 = 0,815 \\ X_2 = 0,37 \\ X_3 = 0,24 \end{cases}$$

$$\longrightarrow \begin{cases} Z_1 = 0,5815 \text{ mg MS/mL eau} \\ Z_2 = 75,63 \text{ }^\circ\text{C} \\ Z_3 = 11,2 \text{ min} \end{cases}$$

❖ **Tracé des isoréponses et des surfaces de réponses**

L'objectif de ce travail est d'obtenir les valeurs optimales des différents facteurs opératoires qui permettent l'obtention de la concentration des polyphénols totaux la plus élevée.

Pour simplifier l'étude, nous sommes amenés à fixer une variable (nous l'avons choisi au centre de son intervalle de variation) et déterminer les valeurs des deux autres variables.

Les figures III.3, III.4 et III.5 sont tracées à l'aide du logiciel MATLAB 7.0 .

Pour $X_1=0$

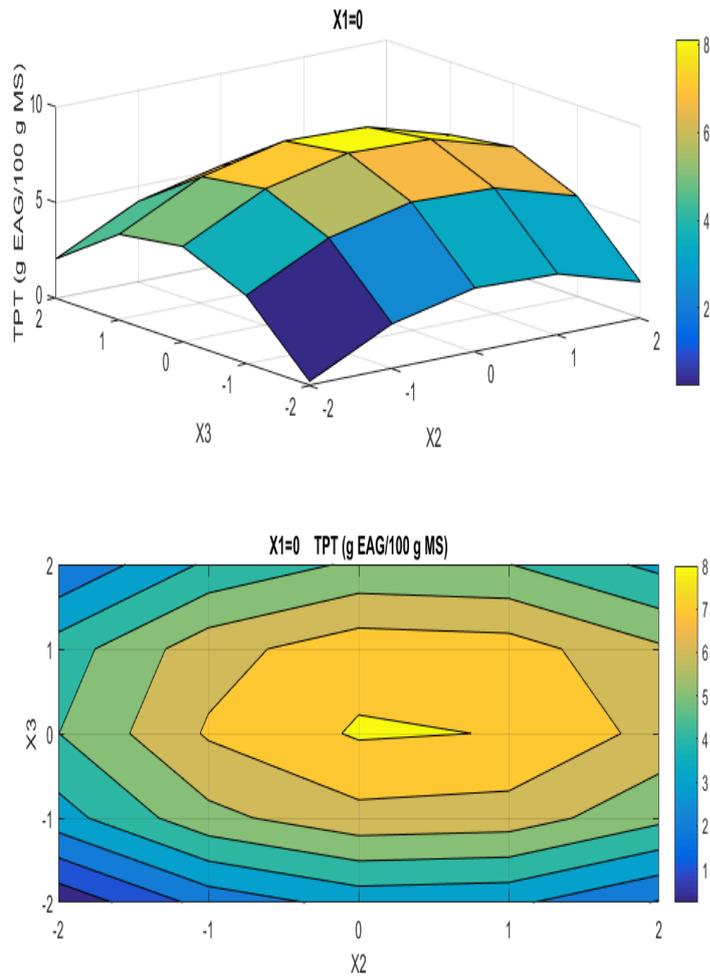


Figure III.3 : Surface et isoréponses (X_2 , X_3)

D'après la **figure III.3**, on remarque que pour $X_1=0$ (0.5 mg MS/mL eau), la TPT maximale est de 8 g EAG/100 g MS, elle est obtenue pour $X_2=0$ environ (70 °C) et $X_3=0$ (10 min).

Pour $X_2=0$

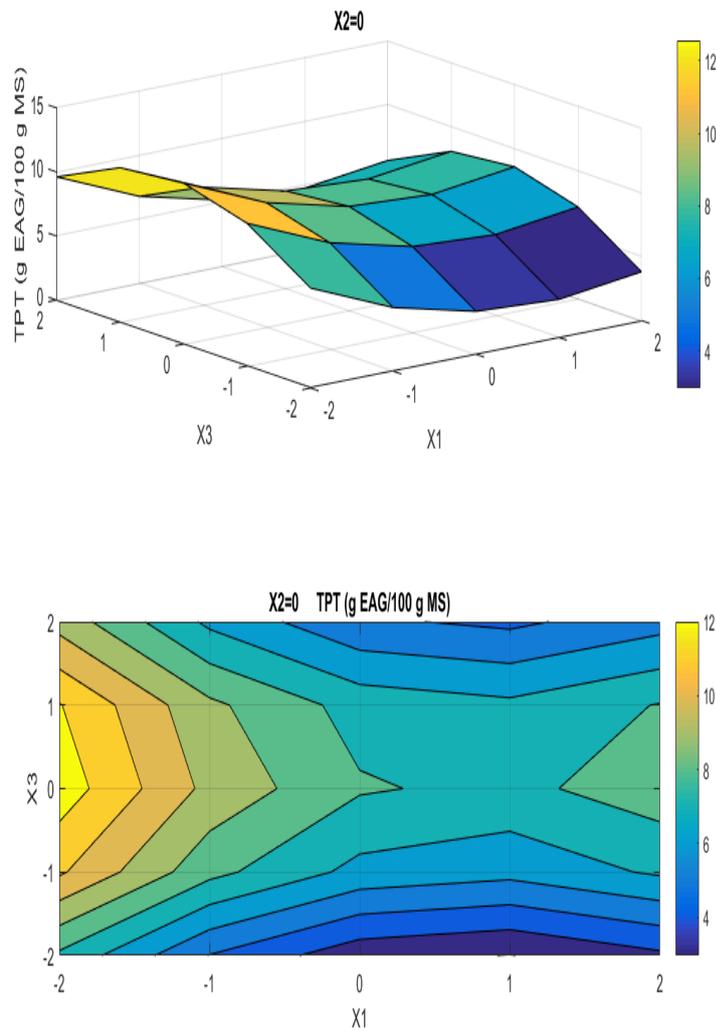


Figure III.4 : Surface et isoréponses (X_1 , X_3)

D'après la **figure III.4**, on remarque que pour $X_2=0$ (70 °C), la TPT maximale est de 12 g EAG/100 g MS, elle est obtenue pour $X_1=-1.68$ environ (0.332 mg MS/mL eau) et $X_3=0$ (10 min).

Pour $X_3=0$

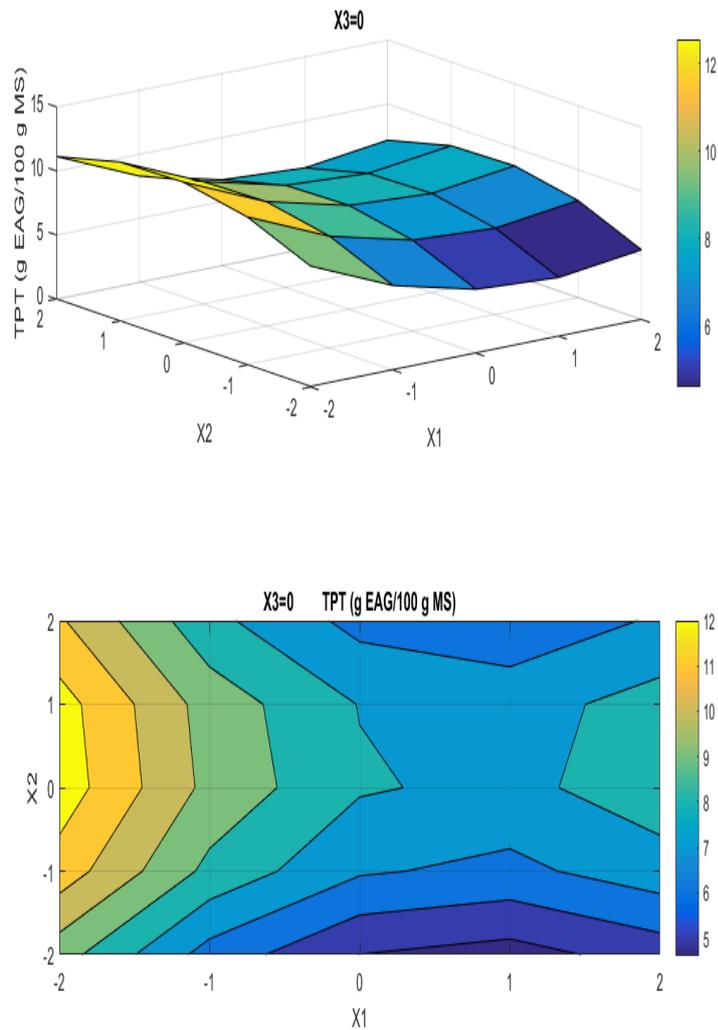


Figure III.5 : Surface et isoréponses (X_1 , X_2)

D'après la **figure III.5**, on remarque que pour $X_3=0$ (10 min), la TPT maximale est de 12 g EAG/100 g MS, elle est obtenue pour $X_1=-1.68$ environ (0.332 mg MS/mL eau) et $X_2=0$ (70 °C).

III.2.3. Elaboration du modèle du premier degré pour le Basilic

Les paramètres opératoires (Z1, Z2, Z3) considérés pour la modélisation de la concentration des flavonoïdes et des polyphénols produite par l'infusion du basilic sont donnés dans le tableau III.11 :

Tableau III.11 : Matrice des expériences du plan factoriel complet à deux niveaux 2^3 et les résultats des TPT et TFT.

| Essais n° | X ₁ (C) | X ₂ (T) | X ₃ (t) | Y (réponse) | |
|-----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-------------------------|------------------------|
| | | | | TPT (g EAG/100 g MS) | TFT (g EQ/100 g MS) |
| 1 | -1 | -1 | -1 | 3,726 | 0,351 |
| 2 | 1 | -1 | -1 | 4,300 | 0,235 |
| 3 | -1 | 1 | -1 | 3,925 | 0,346 |
| 4 | 1 | 1 | -1 | 4,091 | 0,260 |
| 5 | -1 | -1 | 1 | 5,004 | 0,355 |
| 6 | 1 | -1 | 1 | 3,510 | 0,258 |
| 7 | -1 | 1 | 1 | 4,77 | 0,382 |
| 8 | 1 | 1 | 1 | 5,059 | 0,324 |
| 9 | 0 | 0 | 0 | 4,599 | 0,301 |
| 10 | 0 | 0 | 0 | 4,541 | 0,335 |
| 11 | 0 | 0 | 0 | 4,206 | 0,317 |
| 12 | 0 | 0 | 0 | 4,55 | 0,299 |
| 13 | 0 | 0 | 0 | 4,588 | 0,320 |
| 14 | 0 | 0 | 0 | 4,278 | 0,315 |

❖ **Test de signification des coefficients :****Tableau III.12 :** Valeurs et signification des coefficients du modèle.

| Coeff | Polyphénols totaux | | | | T tabulé f=N ₀ -1=5- α/2=0975 | Flavonoïdes totaux | | | |
|-------------------|--------------------|----------------|-----------------|----------------------|--|--------------------|----------------|-----------------|----------------------|
| | Valeur | Ecart- type | t de student | Coeff Non sign | | Valeur | Ecart- type | t de student | Coeff Non Sign |
| b ₀ | 4,298 | | 70,687 | S | | | | | |
| b ₁ →m | -0,0585 | | 0,962 | NS | | | | | |
| b ₂ →T | 0,163 | | 2,684 | S | | | | | |
| b ₃ →t | 0,288 | | 4,736 | S | | | | | |
| b ₁₂ | 0,1714 | 0,0608 | 2,819 | S | 2,571 | 0,0086 | 0,00471 | 1,825 | NS |
| b ₁₃ | -0,2436 | | 4,006 | S | | 0,0058 | | 1,237 | NS |
| b ₂₃ | 0,166 | | 2,729 | S | | 0,0091 | | 1,949 | NS |
| b ₁₂₃ | 0,273 | | 4,498 | S | | 0,00108 | | 0,2305 | NS |

S : significatif ; NS : non significatif, coeff : coefficients

Du point de vue statistique, le test de Student est requis pour estimer les coefficients du model

❖ **Les équations du modèle :**✓ **Polyphénols :**

$$Y=4,2986+0,1632*X_2+0,2880*X_3+0,1715*X_1*X_2-0,2436*X_1*X_3+0,166*X_2*X_3+0,2735*X_1*X_2*X_3$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 7.
- ✓ Tous les paramètres étudiés ont un effet sur la réponse mis à part la masse.
- ✓ La température (X2) influence positivement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la l'augmentation de la température).
- ✓ L'effet de temps (X3) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de temps).
- ✓ L'interaction triple a un effet positif sur la réponse.
- ✓ L'effet de la concentration massique (X1) se manifeste dans l'interaction double avec le temps et la température et dans l'interaction triple.

- **Flavonoïdes :**

$$Y=0,3145-0,0445*X_1+0,0141*X_2+0,0159*X_3$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 4.
- ✓ Tous les paramètres étudiés ont un effet positif sur la réponse mis à part la masse.
- ✓ L'effet de la température (X2) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de ces derniers).
- ✓ Les effets b12, b13, b23, b123 sont nuls.

Tableau III.13: Analyses des variances (recherche de biais).

| | Polyphénols totaux | | Flavonoïdes Totaux | |
|---|---------------------|------------------------|---------------------|------------------------|
| | Variance résiduelle | Variance reproductible | Variance résiduelle | Variance reproductible |
| Somme des carrés | 0,0274 | 0,1479 | 2,1368 | 0,00088 |
| Degré de liberté | 1 | 5 | 5 | 5 |
| Carré moyenne | 0,0274 | 0,0296 | 0,00039 | 0,00017 |
| F1 (fischer-snedecor) | 0,9264 | | 2,2302 | |
| F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =N-p, f ₂ =N-1=5 | 6,61 | | 5,05 | |

La valeur $F1_{calculé}$ de Fisher est inférieure à la valeur tabulée, l'erreur d'ajustement entre le modèle réel et le modèle estimée est négligeable devant l'erreur expérimentale : par conséquent, l'équation du modèle prédit est valide et ajuste bien les données expérimentales

Tableau III.14 : Analyse des variances (signification de la régression).

| | Polyphénols totaux | | Flavonoïdes Totaux | |
|---|--------------------|---------------------|--------------------|---------------------|
| | Régression | Variance résiduelle | Régression | Variance résiduelle |
| Somme des carrés | 461,8261 | 0,9630 | 6,7530 | 0,0081 |
| Degré de liberté | 5 | 3 | 6 | 2 |
| Carré moyenne | 92,3652 | 0,3210 | 1,1255 | 0,0040 |
| F2 (fischer-snedecor) | 287,741 | | 278,506 | |
| F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =p, f ₂ =N-p | 9,01 | | 19,3 | |

III.3. Teneurs des PT des extraits de sept herbes

III.3.1. Teneurs des PT

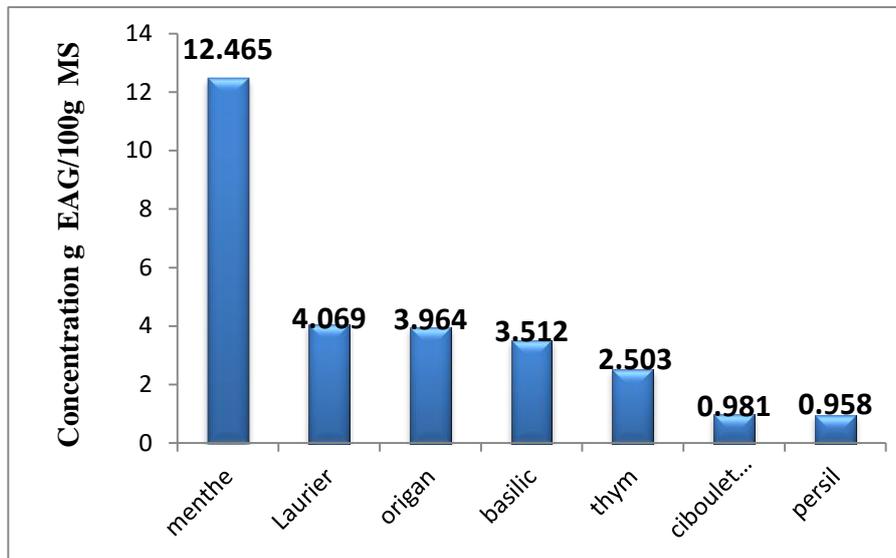


Figure III.6 : Teneur des polyphénols en g EAG/100g MS

Au vu des résultats rapportés dans la **figure III.6**, une concentration très élevée est marquée pour la menthe, qui est nettement la plus riche en polyphénols totaux, cette concentration atteint 12,465 g EAG/100g MS. Suivi par laurier, l'origan, basilic et le thym, enregistrant respectivement par ordre décroissant les teneurs suivantes 4,069 > 3,964 > 3,511 > 2,502 g EAG/100g MS.

L'histogramme nous montre que les plantes les plus pauvres en polyphénols sont la ciboulette et le persil avec des teneurs respectives de 0,9807 g EAG/100g MS et de 0,9807 g EAG/100g MS.

III.3.2 Teneurs des FT des extraits de sept herbes

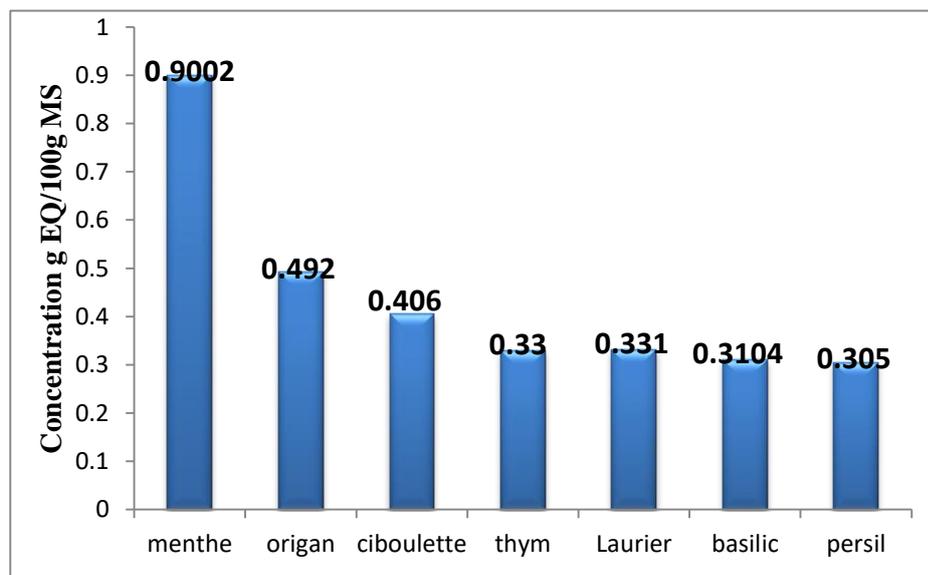


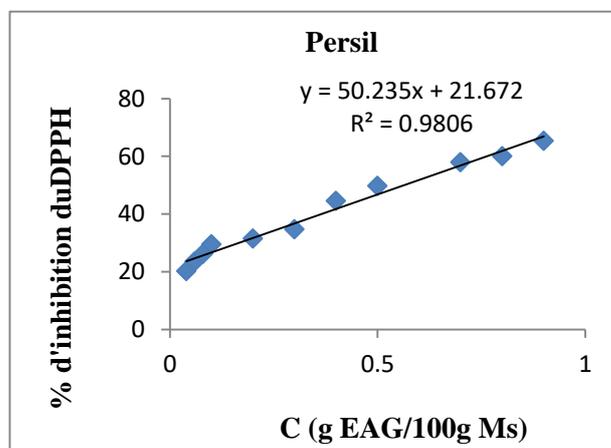
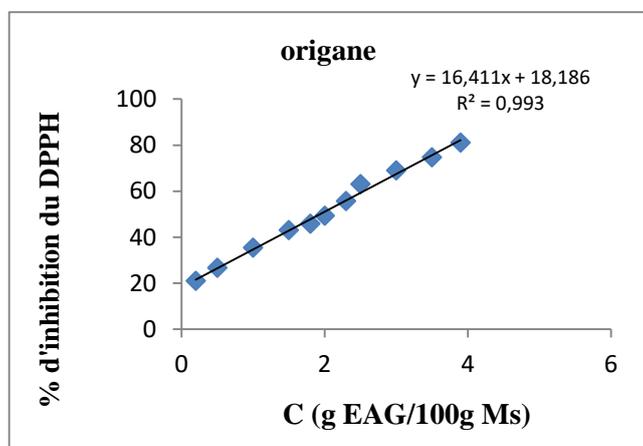
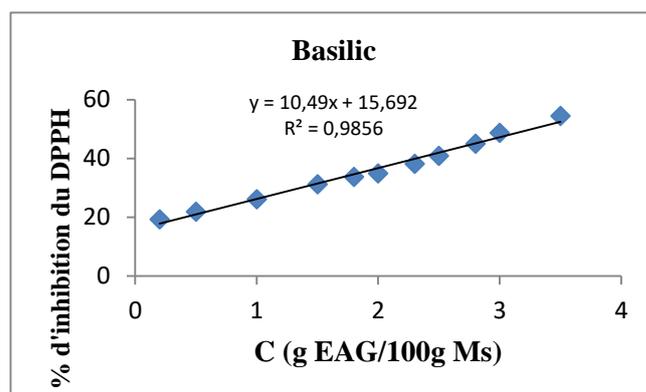
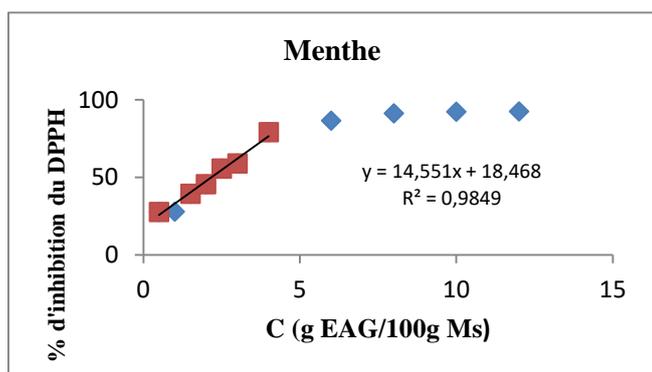
Figure III.7 : Teneur des Flavonoïdes en g EQ/100g MS

Les résultats présentés dans la **figure II.7**, montrent que les concentrations des flavonoïdes sont très proches pour la majorité des extraits. La comparaison des valeurs en flavonoïdes, des différents extraits a montré que la menthe est plus riche en flavonoïdes avec une teneur 0,9002 g EQ/100g MS suivi par l'origan, ciboulette, thym, laurier, basilic et le persil avec des concentrations proches enregistrant respectivement par ordre décroissant 0,4919 > 0,4065 > 0,331 > 0,3308 > 0,3104 > 0,3049 g EQ/100g MS.

III.4. Pouvoir anti-radicalaire DPPH

L'activité antioxydant des différents extraits de la plante vis-à-vis du radical DPPH° a été évalué spectrophotométriquement en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette à la couleur jaune. Cette capacité de réduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances anti radicalaires.

Les résultats du piégeage du radical libre DPPH° sont exprimés en pourcentage d'inhibition du radical libre en fonction des concentrations des extraits (**Figure III.8**).



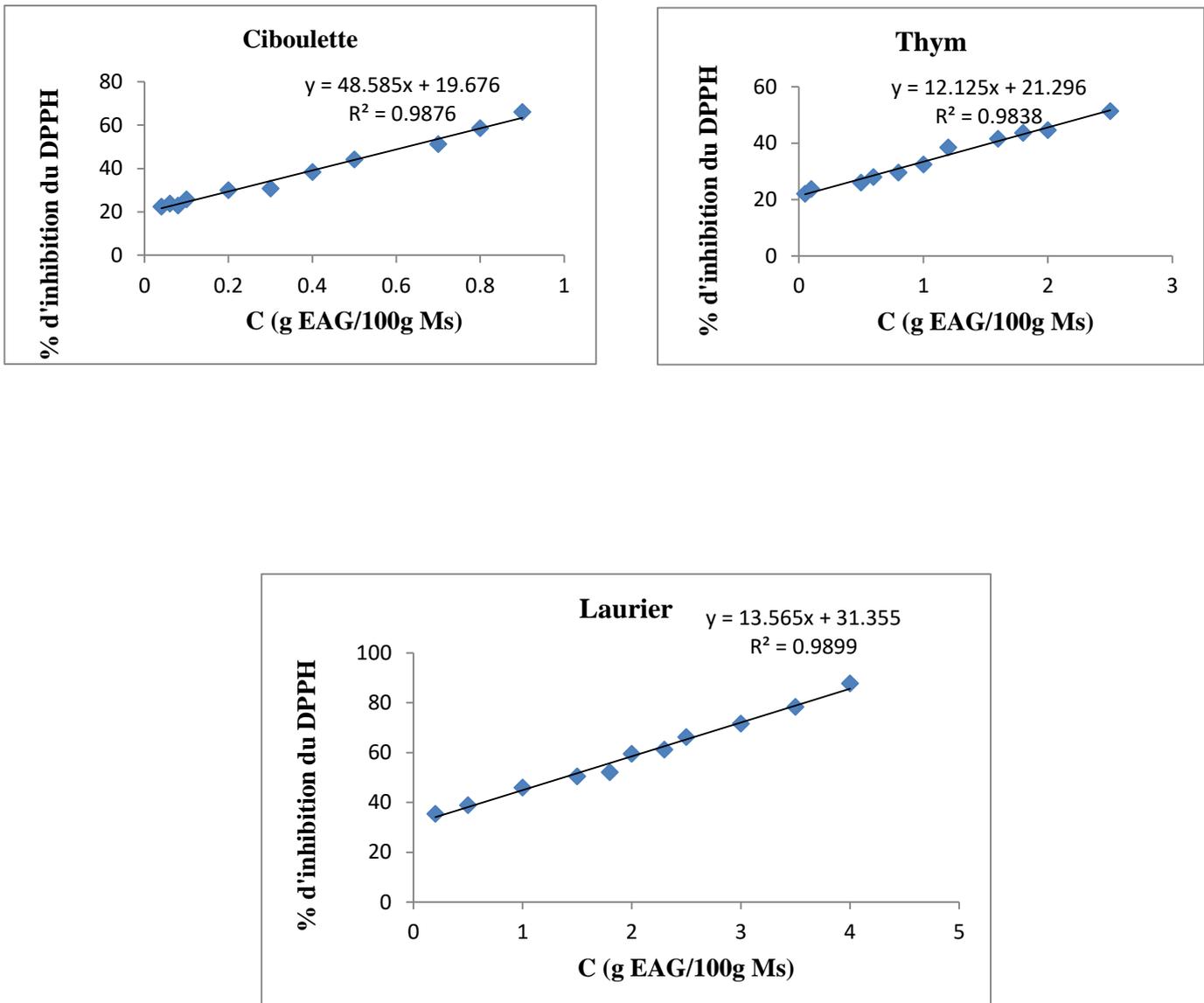


Figure III.8 : Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations des extraits en g EAG/100g MS.

D'après les résultats obtenus dans les sept figures ci-dessus, nous avons enregistré une augmentation des pourcentages d'inhibition de DPPH° en fonction des concentrations des extraits étudiés.

❖ Détermination des IC50

A partir des courbes de la **figure III.8** nous pouvons déterminer la valeur d'IC50 de chaque extrait. Les valeurs des concentrations des IC50 sont rapportées sur la **figure III.9** suivante :

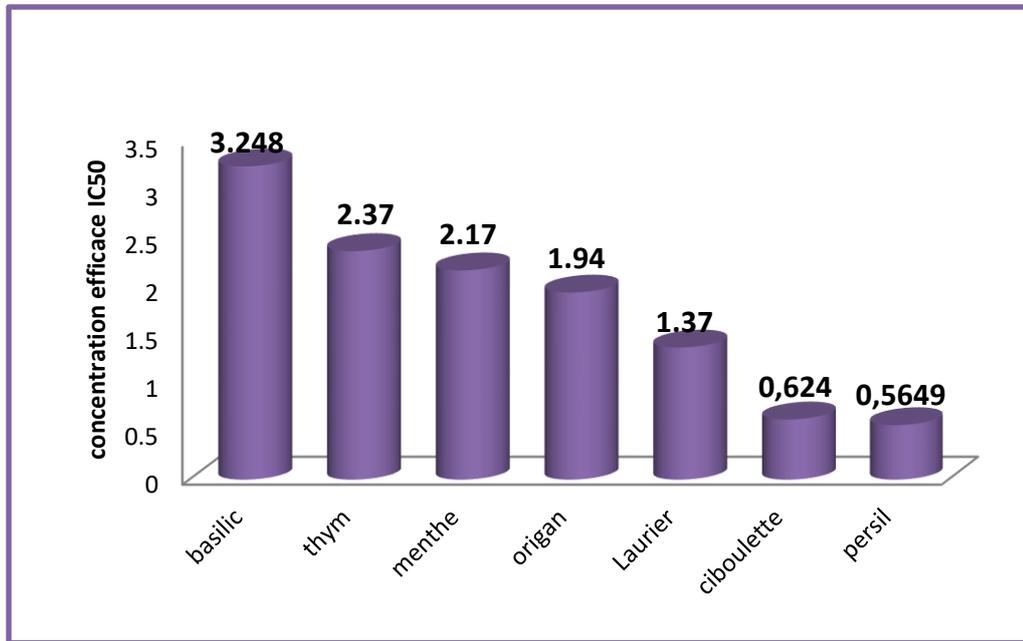


Figure III.9 : Valeurs des concentrations d'IC50

D'après la **figure III.9** ci-dessus, on remarque que l'extrait d'infusion de la ciboulette et du persil est le plus actif avec un IC50 de l'ordre de 0,624 g EAG/100g MS et de 0,5649 g EAG/100g MS respectivement, suivi par Les extraits aqueux de laurier, origan, menthe, thym avec des concentrations égale à 1,37 < 1,94 < 2,17 < 2,37 g EAG/10g MS. Par contre, l'extrait aqueux de basilic a la plus faible activité anti radicalaire avec 3,248g EAG/10g MS.

D'après les résultats obtenus, la variation du pouvoir antioxydant des différents extraits pourrait s'expliquer par leur richesse différentielle en polyphénols et plus particulièrement la nature de ces composés. Les polyphénols semblent être des donateurs efficaces d'hydrogène au radical DPPH, en raison de leur chimie structurale idéale.

Selon la bibliographie, les métabolites secondaires en particulier les polyphénols sont connus par leur effet antioxydant en neutralisant les radicaux libres. Ces composés sont dotés d'activité antioxydant en libérant un atome d'hydrogène à partir de leur groupement hydroxyle ou bien par leurs propriétés chélatrices des ions métalliques [71].

III.5. Analyse par spectrométrie d'émission par plasma à couplage inductif (ICP)

Les résultats obtenus de l'analyse par ICP sont consignés dans le **tableau III.15**. Les métaux présents dans les plantes étudiées, par ordre décroissant de la teneur en μg métal/g MS sont : Mg (moy=215,94 ; max=519 dans le basilic), Sr (moy=10,57 ; max=25,4 dans le persil), Zn (moy=7,83 ; max= 15 dans la menthe), Fe (moy=5,97), In (moy=3,03) et Mn (moy=2,06).

L'analyse par ICP a indiqué une richesse de ces plantes en micronutriments tel que Fe, Cu, Mn.

Tableau III.15 : Teneur des plantes en métaux (μg métal/g matière sèche).

| Plantes | Cr | Fe | Pb | Mn | Ni | As | Ba | In | Mg | Sr | Zn | Tl |
|------------|------|------|------|------|------|------|------|------|--------|-------|------|------|
| Menthe | 0,8 | 6,8 | 1 | 2 | 0,4 | 0,8 | 1,6 | 2,8 | 251 | 11 | 15 | 1,8 |
| Thym | 0,8 | 4 | 0,6 | 1 | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 3 | 210,6 | 11,8 | 2,8 | 2 |
| Laurier | 0,6 | 6 | 0,4 | 2,8 | 0,6 | 1 | 0,8 | 3,4 | 248,4 | 11 | 7,2 | 1,8 |
| Persil | 0,6 | 7,4 | 0,2 | 1 | 0,2 | 0,8 | 0,8 | 3 | 43,6 | 2,8 | 6 | 2 |
| Ciboulette | 0,8 | 8 | 1 | 4,6 | 0,6 | 0,8 | 2,8 | 3,2 | 147 | 9 | 11,4 | 1,8 |
| Basilic | 0,6 | 5,2 | 1,6 | 1,4 | 0,2 | 0,6 | 0,8 | 3 | 519 | 25,4 | 5,2 | 2 |
| Origan | 0,8 | 4,4 | 0,8 | 1,6 | 0,4 | 1 | 1,2 | 2,8 | 92 | 3 | 7,2 | 1,8 |
| Moyenne | 0,71 | 5,97 | 0,80 | 2,06 | 0,37 | 0,80 | 1,26 | 3,03 | 215,94 | 10,57 | 7,83 | 1,89 |

La présence des métaux dans les extraits d'infusion des herbes étudiées, par ordre décroissant est : Mg>Sr>Zn>Fe>In>Mn>Tl>Ba> (As, Pb)>Cr>Ni.

III.6. Corrélation entre les teneurs des différentes grandeurs obtenues**Tableau III.16** : Coefficients de corrélation entre les métaux

| | Cr | Fe | Pb | Mn | Ni | As | Ba | In | Mg | Sr | Zn | Tl |
|----|--------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|--------------|--------|--------------|--------|---------------|----|
| Cr | 1 | | | | | | | | | | | |
| Fe | -0.141 | 1 | | | | | | | | | | |
| Pb | 0.135 | -0.124 | 1 | | | | | | | | | |
| Mn | 0.236 | 0.593 | 0.146 | 1 | | | | | | | | |
| Ni | 0.198 | 0.412 | -0.080 | 0.874 | 1 | | | | | | | |
| As | 0.000 | 0.162 | -0.442 | 0.318 | 0.681 | 1 | | | | | | |
| Ba | 0.573 | 0.603 | 0.271 | 0.845 | 0.610 | 0.109 | 1 | | | | | |
| In | -0.458 | 0.291 | -0.270 | 0.551 | 0.545 | 0.191 | 0.072 | 1 | | | | |
| Mg | -0.328 | -0.273 | 0.762 | -0.090 | -0.194 | -0.513 | -0.230 | 0.085 | 1 | | | |
| Sr | -0.309 | -0.231 | 0.759 | -0.053 | -0.231 | -0.627 | -0.173 | 0.133 | 0.984 | 1 | | |
| Zn | 0.387 | 0.631 | 0.212 | 0.554 | 0.562 | 0.319 | 0.690 | -0.161 | -0.103 | -0.156 | 1 | |
| Tl | -0.417 | -0.270 | 0.000 | -0.673 | -0.891 | -0.764 | -0.573 | -0.125 | 0.252 | 0.342 | -0.723 | 1 |

D'après le **tableau III.16** nous constatons une forte corrélation entre le Mg et Sr ($R=0.984$), entre le Mn et Ni ($R=0.874$), le Mn et Ba ($R=0,845$), et une corrélation négative entre le Ni et Tl ($R=-0.891$).

Tableau III.17 : Corrélation entre TPT, TFT et IC50

| | TPT | TFT | IC50 |
|------|--------------|-------|------|
| TPT | 1 | | |
| TFT | 0.917 | 1 | |
| IC50 | 0.387 | 0.145 | 1 |

D'après le **tableau III.17**, Il y'a une corrélation forte ($R=0.917$) entre les teneurs en PT et FT. Par contre, on ne voit pas de corrélation entre les teneurs des PT et FT car la capacité antioxydante provient aussi d'autres micronutriments. La **figure III.10**, montre la relation entre TPT et TFT.

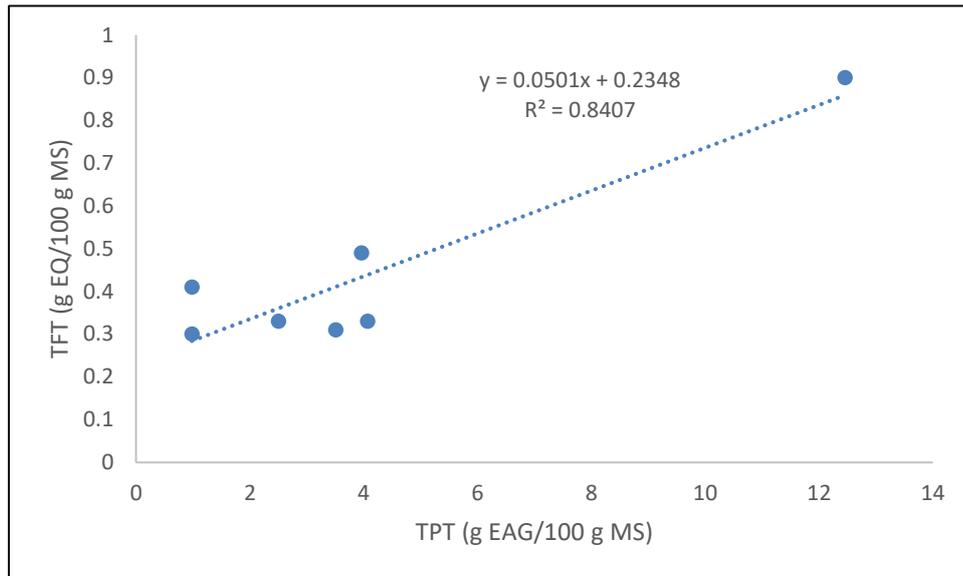


Figure III.10 : Relation entre TPT et TFT

Tableau III.18 : Corrélation entre les métaux et (TPT et TFT)

| | Cr | Fe | Pb | Mn | Ni | As | Ba | In | Mg | Sr | Zn | Tl |
|-----|-------|--------|-------|--------|-------|-------|-------|--------|--------|--------|--------------|--------|
| TPT | 0.289 | -0.001 | 0.256 | -0.099 | 0.100 | 0.105 | 0.029 | -0.452 | 0.245 | 0.130 | 0.667 | -0.414 |
| TFT | 0.547 | 0.182 | 0.222 | 0.086 | 0.206 | 0.171 | 0.347 | -0.552 | -0.031 | -0.119 | 0.832 | -0.547 |

D'après le **tableau III.18** le zinc est bien corrélé avec les flavonoïdes totaux ($R=0.832$), on peut supposer que les flavonoïdes favorise la fixation de ce cation.

Conclusion générale

Ce travail est consacré à l'étude des extraits de quelques herbes aromatiques commercialisées sur le marché local, riches en composés phénoliques.

Les plans d'expériences ont permis d'étudier l'influence de trois facteurs : la masse qui représente la matière sèche par unité de volume d'eau utilisée pour l'infusion, la température d'infusion et le temps d'infusion. Les résultats obtenus montrent que ces facteurs dépendent de la réponse choisie (TPT ou TFT). Ils dépendent aussi des herbes utilisées. En général, nous pouvons constater que la masse de la matière sèche par unité de volume, influe négativement sur les teneurs des PT et FT, alors que la température et le temps, influent positivement sur l'extraction de ces composés.

Le dosage des polyphénols totaux a révélé que l'extrait de la menthe est nettement plus riche en PT, sa teneur atteint 12,465 g EAG/100g MS, suivi par le laurier, origan, basilic, thym, ciboulette et persil enregistrant respectivement par ordre décroissant les teneurs suivantes 4,069 > 3,964 > 3,511 > 2,502 > 0,981 > 0,981 g EAG/100g MS.

Le dosage des flavonoïdes totaux montrent que les concentrations FT sont très proches pour la majorité des extraits. L'extrait de la menthe est plus riche en FT, sa teneur atteint 0,9002 g EQ/100g MS suivi par l'origan, ciboulette, thym, laurier, basilic et persil avec des concentrations proches enregistrant respectivement par ordre décroissant 0,4919 > 0,4065 > 0,331 > 0,3308 > 0,3104 > 0,3049 g EQ/100 g MS.

Les résultats de l'étude du pouvoir antioxydant a montré que l'extrait d'infusion de la ciboulette et du persil sont les plus actifs avec une IC50 égale respectivement, à 0,624 et 0,5649 g EAG/100g MS, suivi par Les extraits d'infusion de laurier, origan, menthe, thym et basilic, avec des concentrations égales à 1,37 < 1,94 < 2,17 < 2,37 < 3,248 g EAG/100 g MS. Une estimation quantitative des polyphénols totaux et des flavonoïdes est mesurée. Le dosage colorimétrique des polyphénols a révélé que l'origan, la menthe de la sont les plus riches en polyphénols totaux suivit du basilic et de laurier

L'ICP nous a permis de constater la présence des éléments suivants, avec leur teneur moyenne en µg/g MS: Mg (215.94), Sr (10.57), Zn (7.83), Fe (5.97), In (3.03), Mn (2.06), Tl (1.98), Ba (1.26), As et Pb (0.80), Cr (0.71) et Ni (0.37).

Les résultats de la corrélation entre les différents paramètres obtenus sont comme suit :

- Il y'a une corrélation positive entre le Mg et Sr ($R=0.984$), entre le Mn et Ni ($R=0.874$), le Mn et Ba ($R=0.845$), et une corrélation négative entre le Ni et Tl ($R=-0.891$).
- Il y'a une forte corrélation ($R=0.917$) entre les teneurs en PT et FT. Par contre, on ne voit pas de corrélation entre l'IC50 et les teneurs des PT et FT.

- Il y'a une corrélation positive entre le zinc et les flavonoïdes totaux ($R=0.832$).

Références bibliographiques

- [1] **Xin Liu, Guanghong lu, Lijuan Wang, Wenqiao Yuvan (2019)**, «Optimization of antioxydant extraction from edible brown alga *Ascophyllum* using response srface methodology», *Food and bioproducts processing* 114, 205-215.
- [2] **Nkhili E (2009)**, polyphénols de l'alimentation : extraction, interaction avec les ions du fer et de cuivre, oxydation et pouvoir antioxydant. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad-Marrakech.
- [3] **H. HIMED (2015)**, mémoire de magister « Etude des activités antioxydantes et antibactérienne des polyphénols d'*Allium triquetrum* L. en vue de leur application sur la sardine commune » Université Mentouri, Constantine.
- [4] **Damintoti K., Mamoudou H.D., Jacques S., Saydou Y., Souleymane S., et Alfred S.T. (2005)** Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.
- [5] **Emma Callery (1994)**, « le grand livre des herbes » Édition KONMANN.
- [6] **M. Cahuzac-Picaud (2012)**, « Épices, herbes et aromates : usages culinaires et recettes », *Phytothérapie*, 10:109–116.
- [7] **H. Richard (2010)**, « Épices et herbes aromatiques » E.N.S.I.A-1 avenue des olympiades 91744.
- [8] **B. Rhino (2013)**, « Réseau caribées pour le développement de système agro écologiques » CIRAD.
- [9] <https://www.google.fr/search?source=hp&ei=qaIoXfz9OeOCjLsP0b> (Consulté le 02 mai 2019).
- [10] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-composition-basilic,46.html>, (Consulté le 15 mai 2019).

[11] **k. Taleb-toudert (2015)**, thèse de doctorat « extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie, évaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *callosobruchus maculatus* » Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou.

[12] <https://www.google.fr/search?ei=vKIoXd6IBoeAjLsPh52v2Ac&q=Basilic&oq=Basilic&gs> (Consulté le 06 juin 2019).

[13] **A. LEFIEF-Del (2013)**, « les herbes aromatiques c'est malin » Edition, quotidien malin.

[14] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-composition-menthe,45.html> (consulté le 20 mai 2019).

[15] **N. Zeghad (2009)**, mémoire de magister « étude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*thymus vulgaris*, *rosmarinus officinalis*) et évaluation leurs teneurs antibactérienne » Université Mentouri Constantine.

[16] https://www.google.fr/search?ei=S6UoXbDRDoragwe_xLHwDA&q=Thymus+vulgari+& (Consulté le 9 juin 2019).

[17] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-composition-thym,41.html> (Consulté le 21 mai 2019).

[18] **S. Chaane (2016)**, Mémoire de magister « l'effet bio-insecticides de l'huile essentielle de l'origan *origanum vulgare* vis-à-vis de deux espèces d'insectes ravageurs le charançon *sylophillus oryzae* et le thrips *frankliniella occidentalis* » Université M.hamed Bougera Boumerdes.

[19] <https://www.google.fr/search?ei=F6coXf3HJrK8gwfM2KQ4&q=Origanum+vulgare+&oq=Ori>, (Consulté le 11 juin 2019).

[20] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-origan ,45.html> (Consulté le 25 mai 2019).

[21] **Vilmorin Andrieux et cie (1925)**, Les plantes potagères : Description et culture Edition 4,812. P502-506.

[22] https://www.google.fr/search?ei=QagoXaiIA9OIjLsP5uWSmAQ&q=Persil&oq=Persil&gs_ (Consulté le 15 juin 2019).

[23] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-persil ,44.html> (Consulté le 23 mai 2019).

- [24] **Emma. Callery (1994)**, « le grand livre des herbes » Édition KONMANN.
- [25] Ciboulette <https://www.google.com/search?client=firefox-b-d&channel=trow&q=Ciboulette> (Consulté le 20 juin 2019).
- [26] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-cibouléte ,42.html> (Consulté le 28 mai 2019).
- [27] **k. Taleb-toudert (2015)**, thèse de doctorat « extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie, évaluation de leurs effets sur la bruche du niébé *callosobruchus maculatus* » Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou.
- [28] Rameaux et feuilles de *L. nobilis* <https://www.google.com/search?client=firefox-b> (Consulté le 30 juin 2019).
- [29] <http://www.aprifel.com/fiche-nutri-produit-laurier,30.html> (Consulté le 22 mai 2019).
- [30] **S. Achat (2013)**, thèse de doctorat « polyphénols de l'alimentation : extraction pouvoir antioxydant et interaction avec les ions métallique » Université .A.MIRA, Bejaia.
- [31] **Innocenzo G. Casella* and Mariagiovanna Ritorti (2011)**, « Chromatographic separations and liquid phase extraction/concentration of some polyphenolic compounds: a comparison between reverse phase and cation-exchange chromatography » Cite this: Anal. Methods, 3, 575.
- [32] **Madi Aicha (2009)**, mémoire magister « caractérisation et comparaison du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales (Thym et Sauge) et la mise en évidence de leurs activités biologiques», Université Mentouri de Constantine.
- [33] **Obame Engonga, L. (2009)**, Etude Phytochimique, activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Université D'Ouagadougou unité de formation et de recherche sciences de la Vie et de la Terre (UFR-SVT) P : 201.
- [34] **Ghedadha, N., Hambaba, L., Ayachi, A., Aberkane, M.C., Bousselfela, H., Oueld-Mokhtar, S.M., (2015)**. Polyphénols totaux, activités antioxydante et antimicrobienne des extraits des feuilles de *Marrubiumdeserti* de Noé, *Phytothérapie* 13:118-129,

- [35] **L. CHEBIL (2006)**, thèse de doctorat « Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle » institut national polytechnique de lorraine.
- [36] **Korkina L.G., Afanas'ev I.B. (1997)**. Antioxidant and chelating properties of flavonoids. *Pharmacol.* 38: 151–163.
- [37] **Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H. (2006)**. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Edt Blackwell Publishing Ltd.
- [38] **Poirot R. (2007)**, thèse doctorat « méthodologie pour le passage en continu d'extraction de soluté a partir de matière végétale », Institut National Polytechnique de Toulouse.
- [39] **A.KADOUS (2011)**, thèse de doctorat « Extraction de l'ion uranyle par procédés d'extraction solide liquide et membranaire liquide supportée », université Abou bekr belkaid Tlemcen
- .
- [40] **Mohammad Mounir, S. (2007)**. Département Génie des procédés Industriels. La Rochelle, Université de La Rochelle.
- [41] **Mafart, P. and E. Béliard (1993)**. Génie Industriel Alimentaire techniques séparatives. Paris, Techniques et Documentation-Lavoisier.
- [42] **Gao, L. and G. Mazza (1996)**. "Extraction of anthocyanin pigments from purple sunflower hulls." *J. Food sci.* 61: 600-603.
- [43] **Pifferi, P. G. and A. Vaccari (1983)**. "The anthocyanins of sunflower. II. A study of the extraction process." *Journal of Food Technology* 18: 629-638.
- [44] **Landbo, A.-K. R. and A. B. S. Meyer (2001)**. Enzymatic enhancement and oxidant activities of anthocyanins and other phenolic compounds in black currant juice. Biologically-active phytochemicals in food. Cambridge UK, Royal Society of Chemistry: 354-356.

[45] **Dibert, K. (1989)**. contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert. LYON, Claude Bernard LYON I.

[46] **Gerin, M. (2002)**. Solvants industriels : Santé, Sécurité, Substitution. . Paris, Ed. Masson.

[47] **Vigneron, M. (1954)**. Fractionnements par solvants. Paris, VIGOT Frères.

[48] **Leybros, J. and P. Frémeaux (1990)**. "Extraction solide-liquide aspects théoriques." techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06.

[49] **Binbenet, J. J., A. Duquenoy, et al. (1993)**. Génie des procédés alimentaires des bases aux applications. Paris.

[50] **Cacace, J. E. and G. Mazza (2003)**. "Mass transfer process during extraction of phenolic compounds from milled berries." Journal of Food Engineering 59(4): 379-389.

[51] **Cacace, J. E. and G. Mazza (2003)**. "Optimisation of atraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol." J. Food sci. 68: 5939-5946.

[52] **Turker, N. and F. Erdogan (2005)**. "Effects of pH and temperature of extraction medium on effective diffusion coefficient of anthocyanin pigments of black carrot (*Daucus carota* var. L.)." Journal of Food Engineering In Press, Corrected Proof.

[53] **Chambers, C., K. Exaudi-Larsen, et al. (1996)**. "Aqueous extraction of solubles from oranges: à kinetic study." Food Chemistry 57(4): 483-486.

[54] **Groubert, A. (1984)**. techniques d'extraction végétale. Montpellier, pharmacie.

[55] **Bancirova M. (2009)**, Comparison of the antioxidant capacity and the antimicrobial activity of black and green tea. Food Research International, 43, (5),1379-1382.

[56] **Fuleki, T.; Ricardo-Da-Silva, J. M. (2003)**, Effects of cultivar and processing method on the contents of catechins and procyanidins in grape juice. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, (3), 640-646.

[57] **Marceau Perry (2013)**, thèse « herboristerie : enquête sur les principales demandes a l'officine », Université de Lorraine.

[58] **Cazau-beyret nelly (2013)**, thèse pharmacie « prise en charge des douleurs articulaires par aromatherapie et phytotherapie », Université Toulouse III Paul Sabatier.

[59] **Jean-yves Chabrier (2010)**, thèse doctorat en pharmacie, plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie, Université Henripoincare - Nancy 1.

[60] **Yahiaoui N. (2012)**, Mémoire de magister « Etude de l'adsorption des composés phénoliques des margines d'olive sur carbonate de calcium, hydroxypatite et charbon actif », Université Mouloud Mammerim Tizi Ouzou.

[61] **Ramdani S., Soltana F. (2003)**, mémoire ingénieur « Détermination simultanée de l'aluminium et du fer par spectrophotométrie dérivée à l'aide de la méthode Zero- Crossing », Université A. M Bejaia.

[62] **Meyer et Denier, (1996)** « spectroscopie pratique dans le domaine du visible et de l'ultraviolet », Bull. Un. Phys. 784. P (895 – 908).

[63] **Benaissa A. (2011)**, thèse doctorat « Etude de la dégradation photocatalytique d'un colorant synthétique et d'un tensioactif », Université Mentouri Constantine.

[64] **Lamia Boukemara (2009)**, mémoire magister « étude de l'adsorption des ions phosphate sur des oxy-hydroxydes cas de l'hydroxyde de fer », Université Mentouri de Constantine.

[65] **Chebil L. (2006)**, thèse « acylation des flavonoïdes par les lipases de candida antarctica et de pseudomonascepacia: études cinétique, structurale et conformationnelle », institut national polytechnique de lorraine.

[66] **J. Voyer, J. Dubard, J. Hameury, J-R. Filtz, Article** « Etalonnage en transmission spectrale de filtres pour lecteur de micro- plaque Elisa, Division Optique, 29 Avenue Roger Hennequin 78197 Trappes Cedex, Laboratoire National de Métrologie et d'Essais (LNE)

- [67] **J. Carlos DIAZ ROSADO (2013)**, thèse de doctorat, « Étude et développement de la spectroscopie d'émission optique sur plasma induit par laser pour la réalisation d'analyses de terrain : application à l'analyse en ligne de métaux dans les liquides », UNIVERSITÉ PARISSUD.
- [68] **Oughelis-Hammache Fadila (2017)**, Docteur en sciences «Matériaux membranaires en cyclodextrines pour le transport sélectif de composés organique cibles», Université A. M Bejaia.
- [69] **Ribéreau-Gayon, P., (1968)**. Les tannins, les composés phénoliques des végétaux. Paris. EdDunod.173-201.
- [70] **J. Goupy (2001)**, Introduction aux plans d'expérience. 2^{ème} Edition Dunod, Paris.
- [71] **Bouba, A. A., (2009)**. Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : Caractérisation physico-chimique et fonctionnelle. Thèse de doctorat. Institut national polytechnique de lorraine et l'université de N'gaoundéré. 191 p.
- [72] **FKIH S., (2007)**. Etude de l'effet de l'irradiation ionisante sur certains polyphenols alimentaires et residus pesticides.
- [73] **Nathalie Boizot, Jean-Paul Charpentier**, Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier.79 p.
- [74] **Bendimerad, N., et al, (2012)**. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits aqueux et méthanolique de *Satureja calamintha*ssp.*Nepeta* (L.) Briq. *Revue «Nature & Technologie ». B-Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 09/Juin 2013.Pages 14-19.*
- [75] **Cavar S., Maksimovie M.,Vidic D. & Paric A.(2009)**. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Aetemisias annua* L.From Bosnia Industrial Corps and Products P 479-485.

Références bibliographiques

[76] **Gadaw, A. V., Joubert, and Hansmann, (1997).** Comparaison of the Antioxydant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspathus linearis*). **a-Tocopherols, BHT, and BHA.** Journal of agricural Food Chemistry P632-638.

[77] **Burits M.,Bucar F. (2000),**Phytotherapy Research **14** (323-328).

[78] **Mansouri A , Embarek G, Kokkalou E. and Kefalas P. (2005).** Phenolic profile antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry p411– 420.

[79] **Pastre J. (2005).** Intérêt de la supplémentation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestiques.

Résumé

Ce présent travail a pour objectifs trois points importants :

Le premier point concerne l'optimisation du procédé d'extraction par infusion en utilisant les plans d'expériences. Les trois facteurs (concentration massique, température et temps d'infusion) influent sur les composés phénoliques (TPT et TFT) des extraits de menthe et basilic.

Le deuxième point concerne la détermination de la composition en antioxydants et en minéraux des extraits d'infusion de sept herbes aromatiques (menthe, thym, ciboulette, persil, basilic, origan, ciboulette) de marque TACHEFINE. Les résultats obtenus sont comme suit :

- L'ordre décroissant des TPT (g EAG/100 g MS) des extraits des herbes étudiées est comme suit : Menthe (12,465), laurier, origan, basilic, thym, ciboulette et persil (0,981).
- L'ordre décroissant des TFT (g EQ/100 g MS) des extraits des herbes étudiées est comme suit : Menthe (0,9002), origan, ciboulette, thym, laurier, basilic et persil (0,3049).
- L'activité antioxydante des composés phénoliques varie inversement avec l'IC50. L'ordre croissant de l'IC50 (g EAG/100 g MS) des extraits des herbes étudiées est comme suit : Ciboulette (0,62), persil, laurier, origan, menthe, thym et basilic (3,248).

L'ICP nous a permis de constater la présence des éléments suivants, avec leur teneur moyenne en $\mu\text{g/g MS}$: Mg (215.94), Sr (10.57), Zn (7.83), Fe (5.97), In (3.03), Mn (2.06), Tl (1.98), Ba (1.26), As et Pb (0.80), Cr (0.71) et Ni (0.37).

Les résultats de la corrélation entre les différents paramètres obtenus sont comme suit :

- ❖ Il y'a une forte corrélation ($R=0.917$) entre les teneurs en PT et FT.
- ❖ Il y'a une corrélation positive entre le zinc et les flavonoïdes totaux ($R=0.832$).

Mots clés : infusion, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, ICP, activité antioxydante, corrélation.