

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

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



Réf :.....

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

MASTER

Thème

Optimisation de l'extraction des antioxydants à partir
de l'huile de *Pistacia lentiscus L.*

Présenté par :

AFIA Safia & ALIOUECHE Dyhia

Soutenu le : **21 septembre 2021**

Devant le jury composé de :

| | | |
|------------------------|-----|--------------|
| Melle MEKHOUKHE Aida | MCA | Présidente |
| Mme GUEMGHAR Hayat | MCA | Encadreur |
| Mme FELLA-TEMZI Samira | MCB | Examinatrice |

Année universitaire : 2020 / 2021

Remerciements

*Tout d'abord, on tient à remercier **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience durant ce travail.*

*Nos remerciements vont à notre encadreur **Mme GUEMGHAR Hayat** pour avoir accepté de diriger ce travail, qu'elle trouve ici, l'expression de notre profonde reconnaissance, notre immense gratitude et notre grand respect, pour tous ses efforts, son savoir, ses idées, sa confiance et ses encouragements.*

*Nos remerciements s'adressent aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant d'évaluer et de juger ce travail, **Melle MEKHOUKHE Aida** en qualité de présidente et **Mme FELLA** en qualité d'examinatrice.*

Nous aimerons remercier toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire et plus particulièrement : Les ingénieures et enseignants du laboratoire d'analyses instrumentales

Merci infiniment.

Recevez à travers ce travail l'expression de notre profonde gratitude.

Safia et Dyhia.

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant et en guise de reconnaissance, Je dédie ce travail :

A mes chers parents mon père et ma mère qui mon beaucoup encouragé ;

Mes frères et sœurs surtout ma sœur hassiba et son mari.

Mes oncles et tantes

Mes neveux et nièces : Missipsa , Thiziri , Mohamed ,Sihem .

Nos petits anges de la famille : Mélina, Anaïs, Céline .Lamine et Rayan.

A mes amies : Rosa, Linda, Katia et Lydia.

A Sofiane.

A mes chères voisines : Sarah et Lydia

Ames cousines :Sarah, Mériem et Tinhinane.

A toute la famille AFIA et TARIKT.

A ma binome Dyhia et sa famille.

Avec tous mon affection je ne les remercierais jamais assez pour leur soutien.

Safia

Dédicaces

Avec l'aide de Dieu le tout puissant et en guise de reconnaissance, Je dédie ce travail :

A mes chers parents mon père Tayeb et ma mère zahira qui mon beaucoup encouragé ;

Mes sœurs Faiza et Meriem et mon petit frère Aissa

Mes grands pères et mères

Mes oncles et tantes spécialement : Djamel et Nora

Mes cousins et cousines : Abd slam, Kahina, Naima, Thanina, Amel, Tinhinane, Anis, Ahcen, Sonia et Meriem

Nos petits anges de la famille : Céline, Assil, Ania, Youcef et Wassim

A mes copines : Kahina, Lynda, Sylia, Sonia et Massila.

Louanes.

A toute la famille ALIOUECHE et CHARIKH.

A ma binome Safia et sa famille.

Avec tous mon affection je ne les remercierais jamais assez pour leur soutient.

Dyhia

Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Partie théorique

Chapitre I : Etude bibliographique

| | |
|---|----|
| I-Pistacia lentiscus L | 3 |
| I-1-Description botanique | 3 |
| I-2-Répartition géographique | 5 |
| I-3- Utilisation | 6 |
| II- Huile de Pistacia lentiscus L | 7 |
| II-1- Définition | 7 |
| II-2- Méthode d'extraction de l'huile | 7 |
| II-2-1- Extraction traditionnelle artisanale de l'huile | 7 |
| II-2-2- Extraction mécanique (méthode de presse) | 8 |
| II-3- Composition chimique de l'huile de Pistacia lentiscus L | 9 |
| II-4- Intérêt et utilisation de l'huile de Pistacia lentiscus L | 9 |
| II-5- Profil phénolique de l'huile de lentisque | 10 |

Chapitre II: Extraction assistée par ultrason

| | |
|---|----|
| I-Historique | 13 |
| II- Extraction assistée par ultrasons (EAU) | 13 |
| II-1- Principe | 14 |

| | |
|--|----|
| III- Facteurs influençant la performance d'EAU | 14 |
| III-1- Choix du solvant | 15 |
| III-2- Fréquence de bain ultrason | 15 |
| III-3- Puissance ultrason | 15 |
| III-4- Temps d'extraction | 15 |
| III-5- Volume de solvant | 16 |
| III-6- Température d'extraction | 16 |
| IV- Equipements de laboratoire | 16 |
| IV-1- Bac | 16 |
| IV-2- Sonde | 17 |
| V- Applications des ultrasons | 17 |
| VI- Avantages | 18 |

Chapitre III: Plan d'expérience

| | |
|--|----|
| I- Définition | 19 |
| II- Intérêts | 19 |
| III- Principe | 19 |
| IV- Terminologie..... | 19 |
| V- Surface de réponse | 21 |
| VI- Types de plans d'expériences | 22 |
| VII- Etapes d'une étude | 23 |
| VIII- Avantages des plans d'expérience | 23 |

Partie pratique

Chapitre IV: Matériel et Méthode

| | |
|-------------------------------|----|
| I- Matériel végétal | 24 |
| I-1- Huile de lentisque | 24 |

| | |
|---|----|
| II- Méthode d'extraction des antioxydants | 24 |
| II-1- Extraction assistée par ultrason | 24 |
| II-2- Dosage des composés phénoliques | 25 |
| III- Etude préliminaire | 25 |
| IV- Optimisation par plan d'expérience | 26 |
| V- Activité antioxydante | 27 |
| V-1- Test DPPH | 27 |
| V-1- Test d'ABTS | 27 |

Chapitre V: Résultats et Discussion

| | |
|---|-----------|
| I- Étude préliminaire | 29 |
| I-1- Effet du type de solvant sur l'extraction | 29 |
| I-2- Effet de la concentration du solvant sur l'extraction..... | 29 |
| I-3- Effet de la température sur l'extraction | 30 |
| I-4- Effet du temps sur l'extraction | 30 |
| II- Optimisation de la procédure d'extraction assistée par ultrason | 30 |
| II-1- Ajustement du modèle | 31 |
| II-2- Signification des variables | 34 |
| II-3- Analyse de la surface de réponse | 35 |
| III- Conditions d'extraction optimales | 37 |
| IV- Validation du modèle | 38 |
| V- Evaluation de l'activité antioxydante | 38 |
| Conclusion..... | 40 |

Références bibliographique

Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2 azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonique.

Adeq Precision : précision adéquate.

AdjR² : Coefficient de détermination ajusté.

ANOVA : Analysis of variance (Analyse de la variance).

CPT : Composés phénoliques totaux.

CV : Coefficient de variation.

DPPH : 2,2-déphenyl-1-ptycryl-hydrazyle.

EAG : Équivalent d'acide gallique.

EAU : Extraction assistée par ultrasons.

Pred. R² : Coefficient de détermination de prédiction.

R² : Coefficient de détermination.

MSR : Méthodologie de surface de réponse.

Trolox : Acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique.

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure N°01 : Arbustes de <i>Pistacia lentiscus</i> L | 3 |
| Figure N°02 : Différentes parties de l'arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L (feuilles (A), fleurs(B), fruits(C) et mastic (D)) | 4 |
| Figure N°03 : Répartition géographique de <i>Pistacia lentiscus</i> L..... | 5 |
| Figure N°04: Extraction de l'huile de <i>Pistacia lentiscus</i> | 8 |
| Figure N°05 : Structure de l'acide gallique, l'acide p-coumarique et l'acide férulique..... | 10 |
| Figure N°06 : Propagation d'une onde acoustique dans un milieu liquide | 14 |
| Figure N°07 : Bac et sonde ultrason | 17 |
| Figure N°08 : Niveau bas du facteur est noté par -1 et le niveau haut par +1. | 21 |
| Figure N°09 : Points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur. | 21 |
| Figure N°10 : Réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse. Quelques réponses mesurées aux points du plan d'expériences permettent de calculer l'équation de la surface de réponses | 22 |
| Figure N°11 : Schéma de l'extraction de l'huile de lentisque..... | 24 |
| Figure N°12 : Protocole du dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin. Ciocalteu | 25 |
| Figure N°13 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites..... | 34 |
| Figure N°14 : Courbe 3D montrant l'effet d'interaction de paramètres de concentration de méthanol et de température sur le rendement en CPT. | 35 |
| Figure N°15 : Courbe 3D montrant l'effet d'interaction de paramètre de concentration de méthanol et de temps d'extraction sur le rendement en CPT..... | 36 |

| | |
|---|----|
| Figure N°16 : Courbe 3D montrant l'effet d'interaction de paramètre de température et de temps d'extraction sur le rendement en CPT. | 37 |
| Figure N°17 : Profils pour les valeurs prédites et la fonction de désirabilité..... | 38 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau I : Caractéristique de <i>Pistacia lentiscus</i> | 4 |
| Tableau II : Noms vernaculaires de <i>Pistacia lentiscus L</i> (Garnier et al., 1961). | 6 |
| Tableau III: Composition en acide gras de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> (Charef et al., 2008). | 9 |
| Tableau IV : Composition phénolique des huiles de graines de <i>Pistacia lentiscus tunisiennes</i> (mg/kg d'huile) (Mezni et al., 2018)..... | 11 |
| Tableau V : Terminologie de plan d'expérience. | 20 |
| Tableau VI : Effet de type du solvant sur l'extraction des composés phénoliques..... | 29 |
| Tableau VII : Effet de la concentration de méthanol sur l'extraction des composés phénoliques..... | 29 |
| Tableau VIII : Effet de la température sur l'extraction des composés phénoliques..... | 30 |
| Tableau IX : Effet de temps sur l'extraction des composés phénoliques totaux..... | 30 |
| Tableau X : Plan d'expérimentation de l'optimisation de processus EAU des CPT à partir du l'huile de lentisque. | 31 |
| Tableau XI : ANOVA pour l'effet de la concentration de méthanol, de la température et du temps d'extraction sur le rendement en CPT. | 32 |
| Tableau XII : Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle. | 33 |
| Tableau XIII : Conditions optimales pour l'extraction des CPT ($\mu\text{g EAG/ml}$) de l'huile de <i>Pistacia lentiscus L</i> | 38 |
| Tableau XIV : Activité antioxydante de l'extrait d'huile de lentisque comparé au Trolox.... | 39 |

Introduction

Les polyphénols suscitent depuis plusieurs années un intérêt croissant de la part des nutritionnistes, des industriels de l'agro-alimentaire et des consommateurs (**Wei Li et al., 2007**). Ils font partie de ce que l'on appelle les phytomicronutriments (**Gee et Johnson, 2001**). Ce sont les antioxydants les plus abondants dans les aliments d'origine végétale. Ils neutralisent les radicaux libres et contribuent ainsi à prévenir diverses pathologies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires, la cataracte, les maladies du système nerveux central ou déficiences immunitaires (**Roussel et Ferry, 2002**).

L'espèce *Pistacia lentiscus* est un membre aromatique de la famille des Anacardiaceae, on le trouve dans la flore de nombreuses régions méditerranéennes de l'Europe, de l'Asie et de l'Afrique jusqu'aux îles canariennes (**Zohary, 1952**). L'huile de lentisque est une huile végétale extraite à partir de l'espèce *Pistacia lentiscus*. En Algérie, l'huile est produite traditionnellement à l'Est de l'Algérie, dans les zones notamment côtières où l'espèce abonde (**Boukeloua, 2009**). Son utilisation est tellement vaste dans le domaine de la médecine traditionnelle. Elle est utilisée pour le traitement de la toux, des petites blessures, brûlures légères et érythème. Elle est aussi, souvent employée, pour ses vertus acaricides contre les parasites des denrées alimentaires. (**Habbi-Cherifi, 2015**).

L'extraction assistée par ultrasons est un procédé d'extraction d'une substance à partir d'une matrice vers une phase liquide appropriée (milieu d'extraction), assistée par des ondes ultrasonores (> 20 KHz de fréquence) qui se propagent à travers les milieux liquides. Cette technique s'applique à toute extraction par un liquide tel que l'extraction liquide-liquide et surtout l'extraction solide-liquide. (**Yang et al., 2013**).

Plusieurs facteurs peuvent influencer le rendement d'une extraction ; les effets individuels et combinés de ces facteurs sur l'efficacité de cette dernière peuvent être estimés par des méthodes statistiques telles que la méthodologie de surface de réponse (MSR). MSR est un ensemble de techniques mathématiques et statistiques utilisées pour optimiser des processus complexes qui sont influencés par différentes variables et leurs interactions. L'objectif est d'optimiser simultanément les niveaux des variables analysées pour obtenir les meilleures performances du système tout en réduisant le nombre d'essais expérimentaux. La MSR a été utilisée avec succès pour améliorer et optimiser les processus d'extractions (**Karabegović et al., 2013**).

Par conséquent, ce travail a pour objectif l'optimisation de l'extraction des antioxydants à partir de l'huile de l'espèce *Pistacia lentiscus*, une plante largement utilisée en médecine traditionnelle en Algérie. Cette étude est subdivisée en trois parties essentielles :

- La première partie : Etude bibliographique.

Chapitre I : Présentation de *Pistacia lentiscus* et l'huile de lentisque.

Chapitre II : Extraction assistée par ultrason.

Chapitre III : Plan d'expérience.

- La deuxième partie : Matériel et Méthodes.
- La troisième partie : Résultats et Discussion.
- Conclusion et perspective.

Chapitre I

Etude bibliographique

I-Pistacia lentiscus L :

I-1-Description botanique :

Pistacia lentiscus L appartient à la famille des Anacardiaceae (Tableau I). C'est un arbrisseau ramifié vivace, thermophile, à petites feuilles elliptiques, coriaces et persistantes, à fleurs rougeâtres en grappes et à fruits ronds de la taille d'un pois rouge puis noire à maturité dont le noyau contient une seule graine (Julve, 1998).

Le pistachier a une hauteur de 2 à 3 mètres (Figure N°01), il s'agit d'une espèce dioïque présentant des pieds mâles et femelles distincts, dégageant une odeur résineuse forte (Belfadel, 2009).



Figure N°01 : Arbustes de *Pistacia lentiscus* L (Cherif, 2016).

Il est caractérisé par :

- Une écorce : de couleur rougeâtre sur les jeunes branches, qui vire au gris avec le temps ;
- Des branches : tortueuses et pressés qui forment une masse serrée ;
- Des feuilles : persistantes formées par 4 à 10 folioles de couleur vert foncé ;
- Des fleurs : aromatiques, unisexuées, les fleurs mâles sont caractérisées par une couleur rouge foncé tandis que les fleurs femelles sont de couleur vert jaunâtre. La floraison s'étend du mois d'avril au mois de juin ;
- Les fruits : en forme de baies globuleuses d'abord rouge et deviennent noire en automne quand ils arrivent à maturité ;

- Mastic : l'incision du tronc de cet arbuste fait écouler un suc résineux nommé mastic qui une fois distillé, fournit une essence employée en parfumerie (**Belfadel, 2009**).

Les différentes parties de l'arbuste de l'espèce *Pistacia lentiscus L* est représenté dans la figure N°02.



Figure N°02 : Différentes parties de l'arbuste de *Pistacia lentiscus L* (feuilles (A), fleurs(B), fruits(C) et mastic (D)) (**Cherif, 2016**).

- **Les caractéristiques de *Pistacia lentiscus L* :** Les caractéristiques sont présentées dans le tableau I.

Tableau I : Caractéristiques de *Pistacia lentiscus*.

| | |
|-------------------------|--|
| Nom scientifique | <i>Pistacia lentiscus</i> |
| Famille | Anacardiaceae |
| Genre | Pistacia |
| Espèce | <i>Pistacia lentiscus L</i> |
| Origine | Europe méridionale, nord de l'Afrique |
| Floraison | Mai à Juillet |
| Fleurs | Verte, fleurs assez insignifiantes. |
| Type | Plante ornementale, alimentaire, médicinale. |
| Végétation | Petit arbre et arbuste. |
| Feuillage | Persistant |
| Hauteur | 2 à 3 mètres |
| Toxicité | Fruits comestibles |

I-2-Répartition géographique :

Pistacia lentiscus L. est une espèce sauvage, largement distribuée dans les écosystèmes extrêmes de la région méditerranéenne. Elle est rencontrée également en Europe, en Asie et en Afrique (Figure N°03). Cette espèce est adaptée au climat semi-aride de la méditerranée et aux sols désertique et salin (**Rauf et al., 2017**).

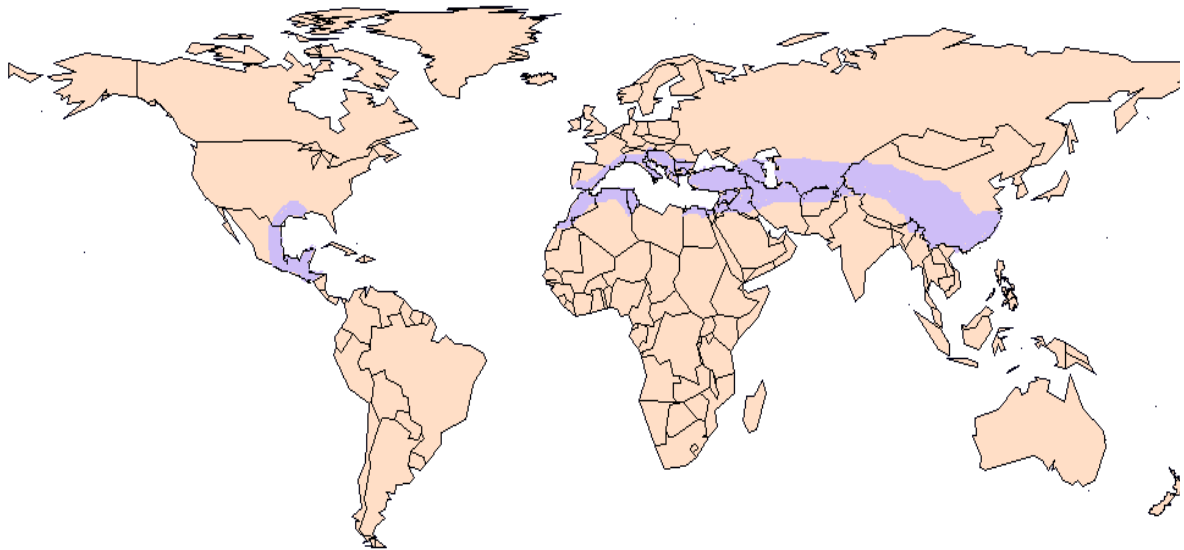


Figure N°03 : Répartition géographique de *Pistacia lentiscus* L (**Cherif, 2016**).

En Algérie, on le retrouve plus précisément dans le bassin de la Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (**Belhadj, 2000**). Son nom varie d'une région à une autre ; Amadhagh ou tidhekht en Kabylie et adraw ou Sareys dans les autres régions (Tableau II).

- **Noms vernaculaires de l'espèce *Pistacia lentiscus* L** : Les noms sont présentés dans le tableau II.

Tableau II : Noms vernaculaires de *Pistacia lentiscus* L (**Garnier et al., 1961**).

| La langue | Le nom |
|-----------|---|
| Anglais | Mastic ou mastick tree |
| Français | Arbre au mastic, Pistachier lentisque, Pestringe ou Lentisque d'Espagne |
| Allemand | Mastixbaun |
| Espagnol | Lentisco, Charnecacomun |
| Italien | Lentischio, Sondrio |
| Arabe | Edharw, Sareys |
| Berbère | Tidekth, Amadagh |

I-3- Utilisation :

- **Industriel :**

L'espèce *Pistacia lentiscus* a une large utilisation dans l'industrie alimentaire (**Davidson, 1948 ; Tanker et Tanker, 1990**), elle est utilisée comme un rafraichissant dans les boissons alcoolisé et non alcoolisé, dans certains mélanges de cosmétique et parfumerie et dans la fabrication des dentifrices et des bains de bouche avec la résine de lentisque (**Baytop, 1999**).

La sève de lentisque est utilisée dans la réalisation d'une gomme à odeur prononcée, qui faisait office de chewing-gum. Elle est aussi utilisée en pâtisserie et en confiserie (**Davidson, 1948**).

Le Pistachier lentisque fait partie de la liste des plantes utilisables dans les compléments alimentaires en France et au sein de la communauté européenne (Arrêté du JORF du 24 juin 2014). Comme il constitue une matière végétale naturelle, disponible à faible coût, il serait dès lors judicieux de tester son potentiel comme agent de conservation (**Debbabi et al., 2017**).

- **Médical et pharmaceutique :**

Pistacia lentiscus a un effet analgésique, antibactérien, antifongique et antioxydant. Elle est souvent citée comme remède efficace contre certaines maladies et elle est considérée comme un agent anticancéreux (**Assimopoulou et Papageorgiou, 2005**). Elle est utilisée dans les traitements traditionnels de l'hypertension artérielle (**Baba Aissa, 2000**). Et les traitements des petites blessures et brûlures. En chirurgie dentaire elle est utilisée dans le plombage des dents en cas de caries, purifie l'haleine et soigne les gencives.

L'encens du mastic du lentisque est conseillé en cas des passages dépressifs. En Grèce, l'essence du mastic est utilisée pour faire une liqueur appelée mastica.

II- Huile de *Pistacia lentiscus* L :

II-1- Définition :

L'huile est un mélange à consistance liquide ou semi-liquide à température ambiante, de substances majoritairement hydrophobes, solubles dans les solvants organiques apolaires ou peu polaires, non volatiles: on parle alors d' « huile fixe ou grasse ». (**Karleskind, 1992**).

L'huile de lentisque est vert foncé, il n'est entièrement liquide qu'à 32°C et 34°C au-dessous il laisse déposer une matière blanche qui se cristallise facilement.

II-2- Méthode d'extraction de l'huile :

La récolte de la baie dont la couleur vire du rouge au noire à maturité se fait entre le mois de Novembre et le mois de Décembre. L'huile de lentisque est obtenue à partir de la chair des fruits oléagineux, par pression, puis par centrifugation et filtration (**Gharby, 2012**).

Il existe deux méthodes d'extraction de l'huile de lentisque :

II-2-1- Extraction traditionnelle artisanale de l'huile :

Cette méthode est la plus ancienne et la plus répandue. Elle nécessite de longues heures de travail physique et pénible. Elle est en générale effectuée par les femmes (**Bensalem, 2015**).

Après la récolte des baies de lentisque, ces dernières passent à l'effeuillage ; cette opération est effectuée manuellement dans le but de se débarrasser des impuretés. Les baies sont lavées pour éliminer les baies moisies qui flottent sur l'eau.

Après, un séchage pendant 7 jours, les baies de lentisque sont ensuite écrasées par de petites pierre meules. Le broyat est versé dans de grands récipients et malaxé par les pieds en ajoutant de l'eau froide pour avoir une pâte qui on la laisse au repos pour une nuit. La couche supérieure de cette pâte est levée et chauffée jusqu'à l'ébullition, puis mise dans un tissu et pressée par les mains pour séparer la phase liquide du tourteau. La phase liquide obtenue est chauffée jusqu'à l'évaporation de toute l'eau. L'huile est récupérée par filtration à l'aide d'un tissu, après il passe au stockage. Cette méthode est non contrôlée et donne des rendements faibles en huile de mauvaise qualité (Mezni et al., 2012).

II-2-2- Extraction mécanique (méthode de presse) :

Les fruits de lentisque sont broyés à l'aide d'un hachoir ordinaire ou électrique. La pâte obtenue est ensuite homogénéisée dans un bain Marie, manuellement par une spatule permettant de réunir les gouttelettes de l'huile et facilitant la séparation des deux phases. Le broyat est étalé sur des disques de fibre et ensuite pressés par une presse hydraulique ou manuelle afin de séparer la phase liquide des tourteaux. Le jus obtenu est ensuite laissé au repos, dans cette étape l'huile remonte naturellement à la surface et sera récupérer. L'huile obtenue est stockée jusqu'à l'utilisation (Figure N°04) (Mezni et al., 2012).

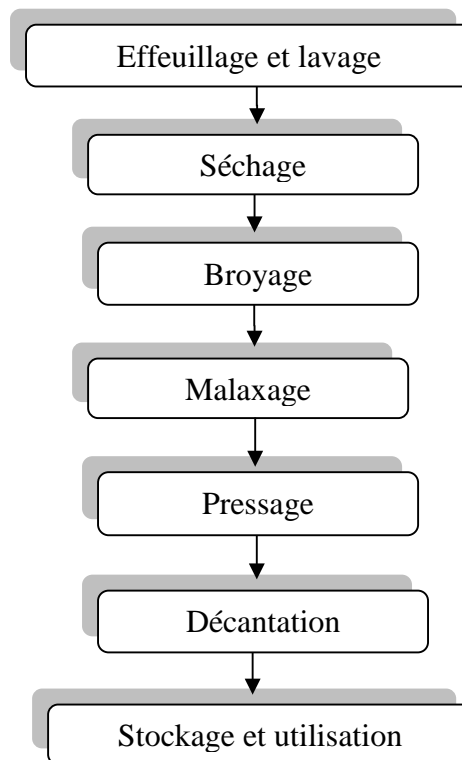


Figure N°04: Extraction de l'huile de *Pistacia lentiscus* (Mezni et al.,2012).

II-3- Composition chimique de l'huile de *Pistacia lentiscus L* :

L'analyse de la composition chimique de l'huile de *Pistacia lentiscus L*, montre que les composés majeurs de cette huile sont les acides gras (78.8%), mais aussi il est composé d'autres constituants qui sont les stérols, les triglycérides, les tocophérols et les caroténoïdes.

L'étude sur la composition chimique effectuée en Algérie a montré que l'huile extraite de fruit de *Pistacia lentiscus L* est composé de trois acides gras insaturés majeurs (oléique, linoléique, palmitique) (Charef et al., 2008). Le rapport entre l'acide gras saturé / insaturé était presque 0.4 (Mezni et al., 2012). La composition en acide gras est résumée dans le tableau III.

Tableau III: Composition en acide gras de l'huile de *Pistacia lentiscus L* (Charef et al., 2008).

| Acide gras | Acide Oléique | Acide Palmitique | Acide Linoléique |
|------------|---------------|------------------|------------------|
| % | 55,3 | 16,3 | 17,6 |

Cette huile contient aussi des quantités importantes en α tocophérol et en β carotène ce qui témoigne de sa valeur nutritionnelle.

L'huile de lentisque est riche en minéraux dont les plus abondants sont : Na, K, Ca, Mg, Fe et Cu (Dhifi et al., 2013).

II-4- Intérêt et utilisation de l'huile de *Pistacia lentiscus L* :

L'huile de lentisque a comme intérêt :

- Traitement d'eczéma, la paralysie, la diarrhée, l'infection de gorge, les calculs rénaux, l'ictère, l'asthme et les maux d'estomac (Mouhajir et al., 2001) ;
- Utilisé comme astringent, anti-inflammatoire, anti pyrétique, antibactérien, antivirale.
- Au Maroc, il est utilisé comme médication externe sous forme d'onguents pour soigner les brûlures ou les douleurs dorsales (Trabelsi et al., 2012) ;
- Recommandée au diabétique, dans le traitement des douleurs de l'estomac, et en cas de circoncision ;
- Traitement des troubles respiratoires ;
- Diminution du niveau de cholestérol dans le sang (Katan et al., 1994).

II-5- Profil phénolique de l'huile de lentisque :

Les phénols sont des composés chimiques présents naturellement dans de nombreux fruits et légumes, en particulier ceux contenant une grande quantité de salicylates. Les composés phénoliques donnent aux produits végétaux frais et transformés certaines de leurs principales propriétés organoleptiques. En plus de leurs contributions à la couleur et à l'arôme, ils jouent un rôle déterminant en termes de goût, en particulier les sensations d'astringence et d'amertume (**Shahidi, 2000**). La recherche sur les bienfaits des polyphénols a montré qu'ils jouent un rôle important dans la prévention des maladies dégénératives telles que le cancer, les maladies cardiovasculaires ou ostéoporose (**Halliwell et Gutteridge, 1999; Steinberg et Lewis, 1997**). La présence de composés phénoliques dans les huiles végétales a été démontrée. Ces composés contribuent à leur stabilité oxydative et à leur importance nutritionnelle (**Naz et al., 2004**).

Une étude réalisée par des Tunisiens sur l'huile de lentisque récolté dans différentes localités en Tunisie a permis de quantifier quarante composés phénoliques et d'identifier dix-huit d'entre eux: Acide gallique, Tyrosol, Acide 4-hydroxyphénylacétique, Acide vanillique, Acide p-coumarique, Acide férulique, Trans-4-hydroxy Acide -3-méthoxycinnamique, acide o-coumarique, oleuropéine aglycone, lutéoline, kaempférol, naphthorésorcinol, acide salicylique, pinorésinol, apigénine, coumarine, acide carnosique et acide trans cinnamique (Figure N°05).

Les huiles de graines de *Pistacia lentiscus* L ont montré une quantité élevée de composés phénoliques par rapport à d'autres huiles comestibles telles que l'huile d'olive et l'huile de noix de coco (**Krichene et al., 2007; Marina et al., 2009**).

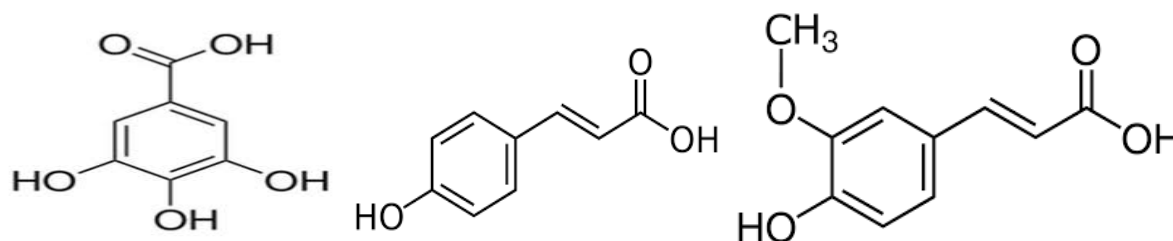


Figure N°05 : Structure de l'acide gallique, l'acide p-coumarique et l'acide férulique.

Le tableau IV montre des différences significatives des teneurs des composés phénoliques identifiés à travers les huit régions de Tunisie. Le profil phénolique de cette huile a montré qu'elle est principalement composée d'acides phénoliques et flavones. Ces deux composés ont été considérés comme des agents thérapeutiques. Il a été rapporté que les acides phénoliques et flavones ont des effets anticancérigènes et antimutagènes et qu'ils sont considérés comme des agents neuroprotecteurs dans certains troubles neurodégénératifs tels que les maladies de Parkinson et d'Alzheimer (Amyloid, 2002 ; Dai et al., 2006).

Tableau IV : Composition phénolique des huiles de graines de *Pistacia lentiscus* tunisiennes (mg/kg d'huile) (Mezni et al., 2018).

| | Azib | Gouairia | Jbel Mansou r | Kebouch | Sidi Zid | Bouchou cha | Kef Erraai | Oueslat ia |
|---|--------------|---------------|------------------|---------------|---------------|----------------|---------------|---------------|
| Acide gallique | 5,89 ± 0,01 | 19,65 ± 0,01 | 3,88 ± 0,02 | 17,27 ± 0,01 | 21,66 | 21,06 ± 0,01 | 38,41 ± 0,02 | 11,14 ± 0,01 |
| Tyrosol | 25,94 ± 0,02 | 50,36 ± 0,02 | 9,33 ± 0,01 | 24,85 ± 0,03 | N.d. | N.d | 95,41 ± 0,05 | N.d |
| Acide 4-hydroxyphénylacétique | 9,74 ± 0,01 | 39,75 ± 0,01 | N.d. | 15,71 ± 0,01 | Nd | N.d | N.d | N.d |
| Acide vanillique | 19,57 ± 0,02 | 812,91 ± 0,05 | 116,96 ± 0,01 | 19,43 ± 0,02 | 121,40 ± 0,01 | N.d | 980,75 ± 0,01 | 17,04 ± 0,01 |
| Acide p-coumarique | 27,89 ± 0,02 | 90,88 ± 0,02 | 28,03 ± 0,02 | 81,37 ± 0,05 | 10,29 ± 0,02 | N.d | 114,82 ± 0,02 | 33,07 ± 0,05 |
| Acide férulique | 15,26 ± 0,01 | 15,26 ± 0,01 | 21,80 ± 0,05 | 28,04 ± 0,02 | 9,57 ± 0,05 | 506,07 ± 0,01 | 754,90 ± 0,01 | 200,93 ± 0,02 |
| Acide trans-4-hydroxy-3-méthoxycinnamique | N.d | 93,85 ± 0,05 | 15,47 ± 0,01 | 9,34 ± 0,03 | 133,95 ± 0,02 | Nd | 491,45 ± 0,02 | 27,23 ± 0,02 |
| acide o-coumarique | 6,98 ± 0,01 | 70,42 ± 0,02 | 12,67 ± 0,02 | 16,55 ± 0,01 | 8,80 | 22,16 ± 0,01 | 116,68 ± 0,01 | 19,11 ± 0,01 |
| Oleuropéine aglycon | 57,36 ± 0,02 | 91,29 ± 0,01 | 12,60 ± 0,01 | 19,04 | 42,51 ± 0,01 | 366,80 ± 0,01 | 315,52 ± 0,05 | 116,74 ± 0,05 |
| Lutéoline | 37,87 ± 0,01 | 207,64 ± 0,01 | 69,23 ± 0,05 | 102,74 ± 0,02 | 30,17 ± 0,01 | 0,00 | 228,89 ± 0,02 | 46,14 ± 0,02 |
| Kaempferol | N.d | N.d | 18,05 ± 0,02 | 9,25 ± 0,05 | 86,38 ± 0,02 | 13,36 ± 0,02 | 57,48 ± 0,05 | 4,27 ± 0,04 |
| Naphtoresorcinol | 8,41 ± 0,01 | 29,76 ± 0,01 | 21,74 ± 0,01 | 7,72 ± 0,01 | N.d | 94,44 ± 0,04 | 224,54 ± 0,01 | 19,96 ± 0,01 |
| Acide salicylique | 33,00 ± 0,02 | 112,73 | 37,25 ± 0,05 | 59,18 ± 0,04 | 6,58 ± 0,01 | 20,98 ± 0,01 | 54,10 ± 0,02 | 4,74 ± 0,05 |
| Pinorésinol | 52,96 ± 0,02 | 482,18 ± 0,01 | 46,65 ± 0,01 | 80,16 ± 0,05 | 110,27 ± 0,02 | 223,52 ± 0,05 | 474,16 ± 0,03 | 84,08 ± 0,05 |

| | | | | | | | | |
|--------------------------------------|------------------|---------------|--------------|---------------|-----------------|---------------|------------------|------------------|
| Apigénine | 197,66 ± 0,01 | 714,38 ± 0,05 | 13,91 ± 0,05 | 923,39 ± 0,01 | 34,63 0,05 ± | 59,28 ± 0,01 | 76,11 ± 0,01 | 23,57 ± 0,01 |
| Coumarine | 215,74 ± 0,02 | 300,87 ± 0,02 | 70,93 ± 0,01 | 278,99 ± 0,02 | 10,54 0,04 ± | 225,76 ± 0,05 | 25,78 ± 0,02 | 68,72 ± 0,02 |
| Acide carnosique | 276,60 ± 0,02 | 126,03 ± 0,01 | 24,38 ± 0,01 | 93,25 ± 0,05 | 37,17 0,01 ± | 37,17 ± 0,01 | 32,10 ± 0,01 | 229,44 ± 0,01 |
| Acide trans cinnamique | 30,66 ± 0,01 | 60,98 ± 0,02 | 15,15 ± 0,02 | 14,97 ± 0,01 | 87,01 0,01 ± | 178,90 ± 0,02 | 179,44 ± 0,05 | 69,45 ± 0,03 |
| Acides phénoliques totaux | 425,61 | 1481,60 | 275,60 | 355,12 | 436,43 | 1361,17 | 2762,67 | 612,15 |
| Total des flavones | 451,26 | 1222,89 | 154,07 | 1305,12 | 75,34 | 285,05 | 330,79 | 138,43 |
| Total des flavonols | 34,35 | 80,12 | 49,12 | 41,82 | 86,38 | 107,79 | 377,44 | 377,44 |
| Total des secoiridoïdes | 57,36 | 91,29 | 12,60 | 19,04 | 42,51 | 366,80 | 315,52 | 116,74 |
| Phénol total | 1021,55 | 3358,08 | 538,03 | 1801,26 | 750,93 | 234433 | 4260,57 | 975,63 |

N.d. : Non détecté

Chapitre II :

Extraction assistée par ultrason

I-Historique :

La découverte des ultrasons est à créditer au biologiste italien L. Spallanzani, en 1794 lorsqu'il a observé la capacité des chauves souris à se déplacer dans l'obscurité totale avec précision, grâce à l'écho-réflexion des ondes sonores à très haute fréquence. En 1876, les premières ondes acoustiques à très haute fréquence au dessus de la limite de l'audition humaine, furent générées par le physiologiste anglais F. Galton lorsqu'il inventa le sifflet qui porte toujours son nom. En 1880, les Français Pierre et Jaques Curie observèrent pour la première fois l'effet piézoélectrique où un potentiel électrique est produit suite à une pression mécanique sur un cristal de quartz (rochelle de sel).

En 1950, avec la collaboration de son frère Francis, le Professeur américain W.J. Fry, physicien de l'université de l'Illinois a mené des études sur l'aspect des ultrasons en biologie et en médecine. C'est ainsi qu'ils arrivent avec le concours du Professeur américain en neurochirurgie, R. Meyers à faire une craniotomie en employant les ultrasons sur des patients atteints de la maladie de Parkinson.

En chimie, l'utilisation des ondes sonores se développa à partir de 1980 avec l'apparition de premiers générateurs ultrasonores fiables (Haunold 1991). Cette dynamique d'utilisation des ultrasons pour des applications en chimie fut concrétisée en 1994 par l'apparition de la revue scientifique « Ultrasonics Sonochemistry » (abrégé Ultrason. Sonochem.), journal bimestriel présentant des articles originaux à l'interface de la chimie et des ultrasons.

II- Extraction assistée par ultrasons :

L'extraction assistée par ultrasons est une technologie émergente utilisée pour l'extraction des composés naturels. Ces composés sont souvent extraits par la méthode conventionnelle qui dure de nombreuses heures. L'utilisation des ultrasons permet d'effectuer des extractions en quelques minutes avec une reproductibilité élevée, ce qui simplifie l'opération et donne une plus grande pureté au produit final. Les ultrasons interagissent avec le matériel végétal et modifient ses propriétés physiques et chimiques. Un effet de cavitation est créé, ce qui facilite la libération des composés extractibles et améliore le transfert de matière en perturbant les parois cellulaires des plantes (Chemat et al., 2011).

II-1- Principe :

Les ultrasons sont des ondes acoustiques générées par un transducteur par effet piézoélectrique inverse. Ils mettent en jeu des phénomènes dits de cavitation, correspondant à la formation de bulles de gaz dans un liquide, lorsque la pression en un point de celui-ci devient inférieure à sa pression de vapeur saturante (**Mason et Lorimer, 1988**).

Les bulles de cavitation ainsi formées sont alors soumises à l'onde ultrasonore qui provoque leur oscillation, leur croissance, leur résonance et leur implosion. Cette phase engendre, à des endroits très localisés, des températures de l'ordre de 5000 K et des pressions d'environ 1000 atmosphères, ce qui constitue la théorie du point chaud (**Suslick, 2001**). La propagation de ces ondes ultrasonores dans un milieu liquide n'est pas continue et entraîne une succession de compressions et de dépressions autour d'une valeur moyenne. L'organisation du milieu réactionnel est perturbée par l'onde, qui va jusqu'à provoquer la rupture de cohésion du milieu (Figure N°06) (**Suslick, 1989**).

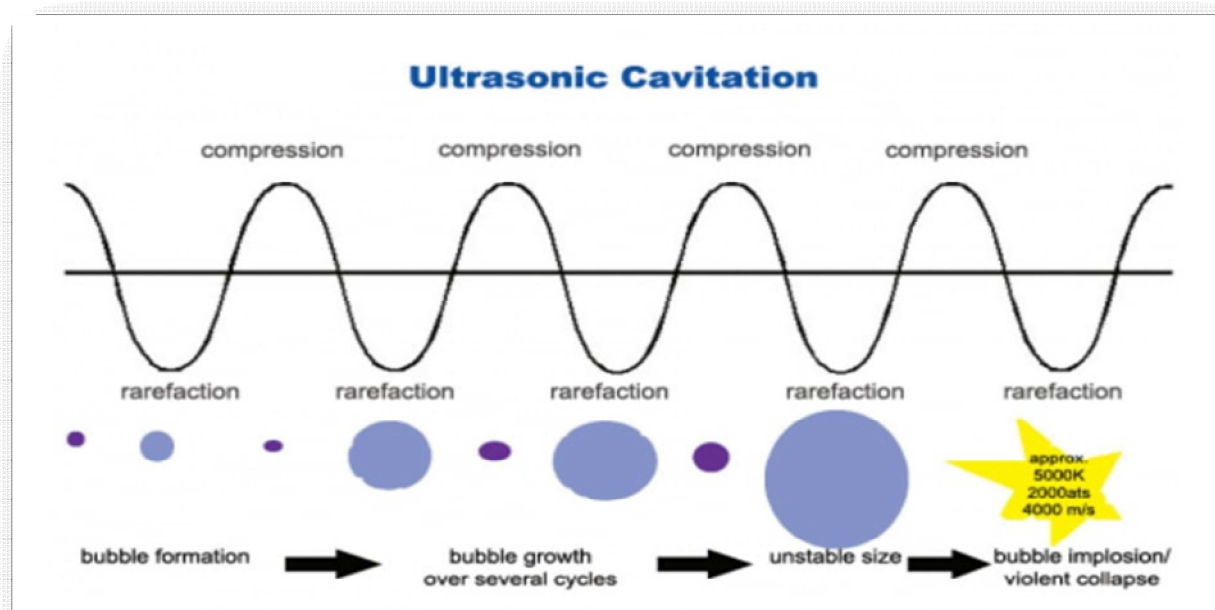


Figure N°06: Propagation d'une onde acoustique dans un milieu liquide (**Suslick, 1989**).

III- Facteurs influençant la performance d'EAU :

Il y a un certain nombre de facteurs que l'on doit prendre en compte lors de l'utilisation de la méthode d'extraction assistée par ultrason tel que la fréquence, puissance, solvant,

température, pression du milieu et présence de gaz dissous qui contribuent à l'action de la cavitation ultrasonore.

III-1- Choix du solvant :

La nature du solvant est un paramètre très important pour la cavitation ultrasonore, car ses propriétés physiques telles que la viscosité et la tension superficielle, influent sur l'efficacité de la cavitation ultrasonore. En effet, une faible viscosité et une faible tension superficielle du solvant permettent d'abaisser le seuil de cavitation (seuil de Blake), vu que les forces de cohésion sont moindres (Assami, 2014).

III-2- Fréquence de bain ultrason :

La fréquence de sonication est un paramètre très important. L'amplitude de la dépression à fournir pour permettre d'atteindre le seuil de cavitation dépend de la fréquence. Plus la fréquence du son est élevée, plus la période de dépression est courte. De plus hautes fréquences rendent plus difficile la cavitation. Les fréquences le plus couramment utilisées se situent entre 20 et 40 kHz (Boucher, 1970).

III-3- Puissance ultrason :

L'activité sonochimique est très dépendante de la puissance ultrasonore ou puissance acoustique ($W m^{-2}$). Néanmoins, au dessous d'une certaine puissance (seuil de Blake), l'amplitude du champ ultrasonore est trop faible pour permettre la formation des bulles de cavitation. Au dessus de ce seuil, les vitesses de réactions augmentent avec l'augmentation de la puissance acoustique, du fait de l'augmentation de nombre de bulles formées. Mais, il apparaît que cette vitesse atteint une limite, lorsque la puissance acoustique est trop élevée. Une concentration élevée de bulles engendre des phénomènes de dispersion de l'énergie par coalescence. Pour obtenir un bon rendement énergétique et chimique, il est conseillé d'appliquer à la solution une puissance comprise entre le seuil de Blake et celle induisant des vitesses maximales (Kapustina, 1973).

III-4- Temps d'extraction :

Le temps est un autre facteur important qui influence le processus d'extraction par ultrasons.

III-5- Volume de solvant :

La quantité de solvant nécessaire pour un seul échantillon est souvent comprise entre 10 et 30 ml. Dans certains cas, le volume de solvant peut être un paramètre important pour des extractions efficaces. Le volume de solvant doit être suffisant pour garantir que l'ensemble de l'échantillon est immergé, en particulier lorsqu'il s'agit d'une matrice qui gonflera au cours du processus d'extraction (**Eskilsson et Björklund, 2000**).

III-6- Température d'extraction :

Plusieurs recherches, ont prouvé que la température a des effets importants sur la cavitation ultrasonore (**Cheung et al., 1994, Goel et al., 2004**). Une augmentation de température du milieu engendre une modification de la viscosité du milieu et une hausse de pression de vapeur saturante, ce qui facilite la cavitation, mais l'implosion des bulles sera moins violente (**Mason, 1999**). C'est pour cette raison que la majorité des réactions sonochimiques sont réalisées à de faibles températures.

IV- Equipements de laboratoire :

Les principaux types de sono-réacteurs rencontrés à l'échelle de laboratoire fonctionnent en général avec des convertisseurs piézo-électriques. On distingue deux formes différentes : les bacs et les sondes.

IV-1- Bac :

Ces bacs sont généralement composés d'une cuve parallélépipédique et ils sont compacts. Le générateur se situe au-dessous du bac. Des convertisseurs sont posés à plusieurs endroits de la cuve sur le fond et/ou les côtés, suivant la répartition du champ acoustique que l'on veut obtenir.

Il existe des cuves ayant d'autres formes que celle présentée sur la Figure N°07 tel que des bacs hexagonaux avec des transducteurs placés sur ses six faces latérales. La hauteur de liquide dans le récipient et la hauteur de liquide de couplage conditionnent la répartition et la transmission de l'onde et donc de la puissance reçue par le milieu irradié. (**Vilarem et al., 1997**).

IV-2- Sonde :

La vibration mécanique émise par le convertisseur se propage le long de la sonotrode jusqu'à un embout interchangeable (à cause de l'érosion due à la cavitation). La sonotrode peut être changée afin de faire varier la surface émettrice et avoir des puissances surfaciques variables (W/cm^2) et des formes de front d'onde différentes. A puissance constante, le volume de zone active croît avec la surface d'émission. La fréquence de résonance de la sonde dépend de sa géométrie et est réglée en faisant l'accord au générateur : donc, changer la sonotrode revient à changer la fréquence de résonance. Le corps des sonotrodes est en alliage de titane afin d'éviter leur corrosion et leur érosion (Figure N°07).

La sonotrode peut être plongée directement dans le récipient à irradier comme un bécher ou un réacteur à double enveloppe. Les sondes peuvent être munies d'une bride qui permet une utilisation dans un grand nombre de configurations. On peut les fixer sur une cellule à l'intérieur de laquelle on fait circuler le fluide à soniquer, donc sur des procédés en continu, ou sur un réacteur autoclave (Vilarem et al., 1997).



Figure N°07 : Bac et sonde ultrason.

V- Applications des ultrasons :

La diversité des équipements ultrasons et leurs actions offre un large éventail d'applications dans le domaine de l'agroalimentaire tel que la transformation, l'extraction et la préservation des produits alimentaires (Mason et al., 2003).

L'utilisation des ultrasons pour l'extraction des matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction. Ces améliorations peuvent être attribuées à l'amélioration de la diffusion des

substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction. Les premières applications ont été liées à la détermination des métaux dans les aliments. Les applications couvrent aujourd'hui l'extraction de nombreux autres composés comme les arômes, les antioxydants, les huiles et les colorants (**Chemat, 2009**).

De nombreuses études ont été menées sur différentes plantes riches en antioxydants, tels que les fruits et légumes. C'est le cas de l'extraction du lycopène de la tomate assistée par les ultrasons (**Liangfu et Zelong, 2008**), des anthocyanes de la framboise (**Chen et al., 2007**) et des composés phénoliques de la fraise (**Herrera et Luque de Castro, 2005**). Les ultrasons permettent une meilleure diffusion du solvant dans les matrices ce qui augmente le rendement d'extraction. Un autre bon rendement d'extraction de composés phénoliques a été observé à partir de la coque de noix de coco (**Rodrigues et coll, 2008**).

VI- Avantages :

L'extraction assistée par ultrason a plusieurs avantages, parmi ses avantages en trouve :

- Rendements élevés ;
- Les solutés diffusent plus rapidement dans le milieu d'extraction ce qui réduit le temps d'extraction ;
- La température de l'extraction est plus faible, ce qui permet d'extraire des substances thermosensible.

Chapitre III :

Plan d'expérience

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche la relation qui existe entre une grandeur d'intérêt Y , et des variables X_i (**Goupy, 2006**).

I- Définition :

Le plan d'expérience est issu de méthodes mathématiques et statistiques appliquées à l'expérimentation. C'est une suite d'essai organisé à l'avance de manière à déterminer en un minimum d'essais et avec un maximum de précision l'influence de multiples paramètres sur une ou plusieurs réponses (**Ferreira et al., 2019**).

II- Intérêts :

Il existe de nombreux plans d'expériences qui peuvent être adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur. Leur utilisation vise les objectifs suivants :

- La détermination des facteurs clés dans la conception d'un nouveau produit ou d'un nouveau procédé ;
- L'optimisation des réglages d'un procédé de fabrication ou d'un appareil de mesure ;
- La prédiction par modélisation du comportement d'un procédé.

III- Principe :

La technique des plans d'expériences va permettre de répondre à nos exigences. En effet, son principe consiste à faire varier simultanément les niveaux de un ou plusieurs facteurs à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse (**Faucher, 2006**).

IV- Terminologie :

Avant d'entamer l'élaboration du plan d'expérience, la connaissance d'une certaine terminologie qui lui est associée revêt une importance primordiale (Tableau V).

Tableau V : Terminologie de plan d'expérience.

| Terminologie | Définition |
|--------------------------------|--|
| 1. Facteur | Un facteur est un ensemble de traitement de même nature liée par une similitude logique et mutuellement exécutif (Pierre, 2008). Les facteurs peuvent être quantitatifs et qualitatifs (Tinsson, 2010). |
| 2. Réponse | La réponse de facteur est la grandeur observée pour chaque expérience réalisée, qui doit être numérique et prise une seule fois au cours d'une observation (Tinsson, 2010). |
| 3. Espace expérimental | Le domaine de variation du facteur ou le domaine du facteur est l'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre un facteur entre les niveaux bas et haut. Par convention, le niveau bas est souvent noté par (-1) et le niveau haut par (+1) (Figure N°08) (Goupy, 2006). |
| 4. Domaine d'étude | Le domaine d'étude est le regroupement des domaines des facteurs définit le domaine d'étude, qui est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour effectuer les essais (Figure N°09) (Goupy, 2006). |
| 5. Interaction | L'interaction est l'effet pour lequel l'influence apparente d'un facteur sur une variable de réponse dépend d'un ou de plusieurs facteurs. L'interaction indique une incohérence de l'effet principal d'un facteur sur la réponse selon le niveau d'un autre facteur (Karam, 2004). |
| 6. Matrice d'expérience | Une matrice d'expérience définit les essais à réaliser. Le terme essai est l'équivalent de point d'expérience lorsque l'on emploie la représentation en tableau des plans d'expérience (Goupy, 1999). |

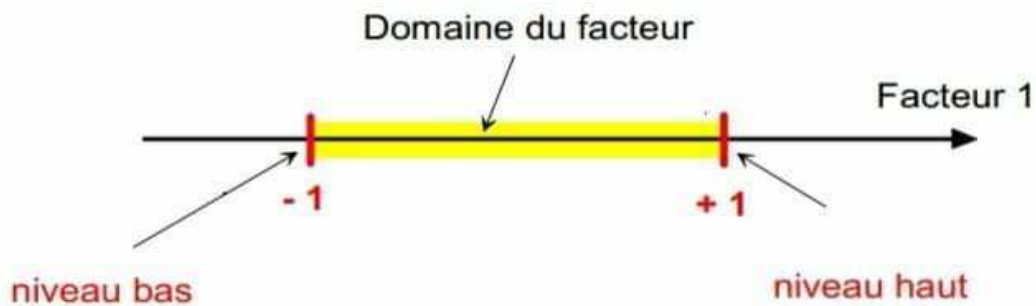


Figure N°08 : Niveau bas du facteur est noté par -1 et le niveau haut par +1 (Goupy, 2006).

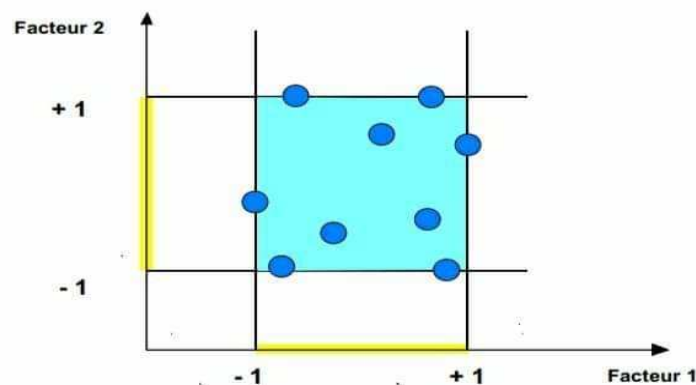


Figure N°09 : Points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur (Goupy, 2006).

V- Surface de réponse :

Les niveaux x_i représentent les coordonnées d'un point expérimental et y est la valeur de la réponse en ce point. On définit un axe orthogonal à l'espace expérimental et on l'attribue à la réponse. La représentation géométrique du plan d'expériences et de la réponse nécessite un espace ayant une dimension de plus que l'espace expérimental. Un plan à deux facteurs utilise un espace à trois dimensions pour être représenté : une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs.

A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la surface de réponse (Figure N°10).

Le nombre et de l'emplacement des points d'expériences est le problème fondamental des plans d'expériences. On cherche à obtenir la meilleure précision possible sur la surface de réponse tout en limitant le nombre d'expériences.

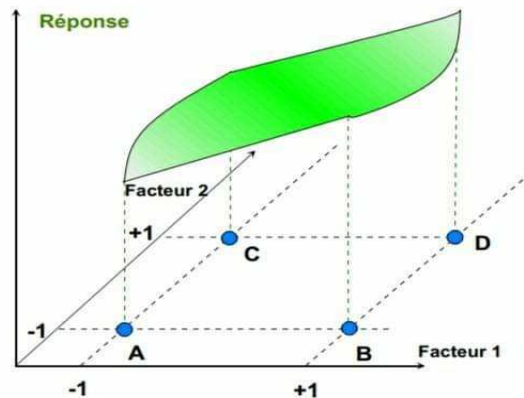


Figure N°10 : Réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse. Les quelques réponses mesurées aux points du plan d'expériences permettent de calculer l'équation de la surface de réponses (Goupy, 2006).

VI- Types de plans d'expériences :

Il existe trois grandes familles de plans d'expérience :

- **Plan de mélange (Goupy, 2006) ;**
- **Plans de criblage (Angellier, 2005) ;**
 - les plans factoriels complets ou fractionnaires à deux niveaux;
 - les plans de Plackett-Burman;
- **Plans de modélisation ;**

Il existe plusieurs types mais les plus employés sont :

- Plan Deohlert ;
- Plans composites centrés ;
- Plans de box-behnken.

VII- Etapes d'une étude :

- **Recherche des facteurs influents :**

La méthodologie des plans d'expériences permet de déterminer les facteurs qui ont une influence significative sur le phénomène étudié ; la valeur de cette influence et l'existence d'interaction entre facteurs (**Ferreira et al., 2019**).

- **Modélisation :**

Une modélisation mathématique du phénomène étudié permettra de trouver la forme d'influence (linéaire ou courbe) et de décrire l'équation qui permettra de lier les facteurs influençant à la réponse (**Ferreira et al., 2019**).

- **Optimisation :**

Recherche des conditions expérimentales qui donnent le meilleur résultat.

VIII- Les avantages des plans d'expérience :

Les avantages des plans d'expérience sont :

- Utilisation de stratégies efficaces pour concevoir le plan avec le minimum d'essais et le maximum de facteurs ;
- Détection des interactions entre facteurs ;
- Détection des optimaux ;
- Meilleure précision sur les résultats ;
- Optimisation et modélisation des résultats ;
- Gain de temps et le coût (**Ferreira et al., 2019**).

Chapitre IV :

Matériel et Méthode

I- Matériel végétal :

I-1- L'huile de lentisque :

Les baies de lentisque ont été collectées au niveau de la wilaya de Bejaia. (Commune de Barbacha). Cette collecte s'est faite en période hivernale entre le mois de décembre 2019 et le mois de février 2020 (saison de cueillette du fruit et de l'extraction de l'huile). Le choix des fruits a été semi-noir ou noir. Les fruits sont lavés et séchés avant l'extraction de l'huile.

L'extraction de l'huile de lentisque a été effectuée par pressage des graines selon une méthode traditionnelle. L'huile a été séparée de tourteau et ensuite récupérée (Figure N° 11).



Figure N°11 : schéma de l'extraction de l'huile de lentisque.

II- Méthode d'extraction des antioxydants :

II-1- Extraction assistée par ultrason :

L'extraction des composés phénoliques de l'huile de lentisque a été effectuée par un bain ultrason. Un volume d'1ml de l'huile de lentisque est introduit dans un tube à essai avec 6ml de solvant (méthanol). Le mélange est homogénéisé en utilisant un vortex puis introduit dans le bain ultrason.

Après l'extraction, un lavage à l'hexane a été ajouté pour éliminer la phase lipidique et récupérer l'extrait méthanoïque par centrifugation pendant 10min à 35000 rpm.

II-2- Dosage des composés phénoliques :

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée par la méthode de Folin-Ciocalteu rapporté par Haddadi-Guemghar et al. (2014) (Figure N°12). Un volume de 1 ml de réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) a été mélangé avec 500 μ l de l'extrait méthanolique. Après 5 min, 1 ml de solution aqueuse de carbonate de sodium a été ajouté.

Le mélange a été maintenu pendant 30 minutes à température ambiante. L'absorbance a été mesurée à 760 nm.

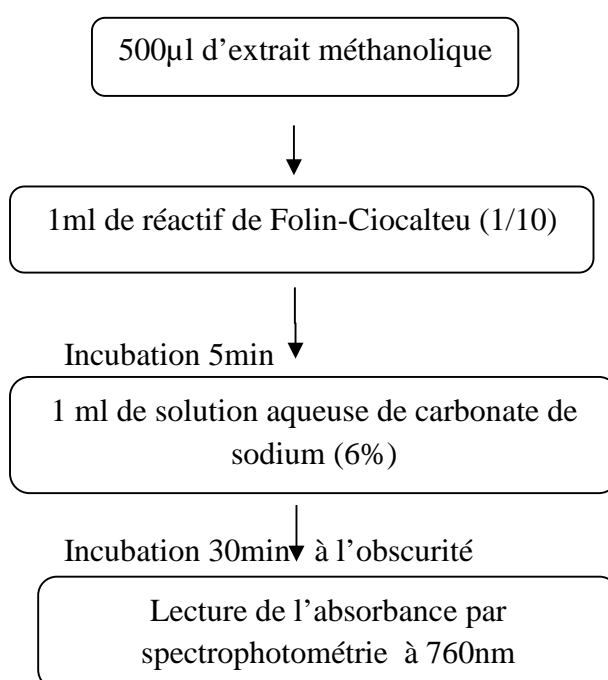


Figure N°12 : Protocole du dosage des composés phénoliques par la méthode de Folin-Ciocalteu (Haddadi-Guemghar et al., 2014).

III- Etude préliminaire :

Une étude préliminaire pour la sélection des facteurs et leurs niveaux a été réalisée. Dans cette étude, les effets de plusieurs paramètres d'extraction influents ; le type de solvant et sa concentration, la durée et la température d'extraction ont été systématiquement étudiés séparément en un seul facteur pour la mise en place des conditions d'extraction optimales pour obtenir le rendement maximum de composés phénoliques à partir de l'huile de lentisque. Les résultats de l'étude préliminaire ont permis la détermination des plages expérimentales appropriées à considérer lors du processus d'optimisation.

- Type de solvant : deux solvants très utilisés lors de l'extraction des composés phénoliques par ultrason ont été testés pour déterminer lequel donnera le meilleur rendement à savoir : le méthanol 60 % et l'éthanol 60% ;
- La concentration de solvant, les concentrations testées étaient (20%, 40%, 60% et 80%) ;
- La durée d'extraction (0min, 10min, 15min, 20min, 25min, 30min, 60min et 120min) à 40°C avec le méthanol 60% ;
- La température d'extraction ; l'extraction a été réalisée avec le méthanol 60% pendant 20min à des températures (20%, 40°C, 60°C et 80°C) ;
- Chaque extraction de l'étude préliminaire a été répétée trois fois.

IV- Optimisation par plan d'expérience :

Les plans d'expériences sont des techniques qui permettent de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse et de les optimiser dans des domaines expérimentaux bien déterminés. Une suite d'essais consistant à manipuler les facteurs afin de décrire la méthode permettant d'obtenir la réponse optimale c'est la méthodologie de surface de réponse.

Le plan Box Behnken a été utilisé pour étudier les effets de trois variables indépendantes ; concentration de solvant, temps d'extraction et la température d'extraction sur la variable dépendante rendement en CPT. La méthodologie de surface de réponse utilise la méthode de régression des moindres carrés pour ajuster les données à un modèle quadratique.

Le modèle quadratique qui lie le rendement en composés phénoliques totaux et les conditions d'extractions est le suivant :

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

Où Y est la réponse prédite ;

β_0 : Constante ;

β_i : Coefficient linéaire ;

β_{ii} : Coefficient quadratique ;

β_{ij} : Coefficient d'interaction des variables i et j ;

X_i et X_j : Variables indépendantes.

Le logiciel utilise ce modèle quadratique pour construire des surfaces de réponse. L'adéquation du modèle a été déterminée en évaluant le manque d'ajustement, le coefficient de détermination (R^2) et la valeur du test de Fisher (valeur F) obtenue à partir de l'analyse de la variance (ANOVA) générée par le logiciel. La signification statistique du modèle et des paramètres du modèle ont été déterminés au niveau de probabilité de 5% ($p=0,05$). Des graphiques de surface de réponse tridimensionnels ont été générés en gardant une variable indépendante à son niveau zéro et en la comparant à deux facteurs (variables indépendantes).

V- Activité antioxydante :

Les tests DPPH° et ABTS⁺ ont été utilisés pour évaluer l'activité antioxydante des extraits méthanoliques obtenus dans les conditions optimales de l'huile de lentisque par la détermination des IC50. Les résultats obtenus ont été comparés à celle du Trolox (analogue hydrosoluble de la vitamine E).

V-1- Test DPPH° :

L'activité antioxydante des extraits a été estimée par la méthode DPPH°, selon la procédure décrite par Haddadi-Guemghar et al. (2014). Un aliquote de 0,5 ml de l'échantillon a été mélangée avec 1,5 ml de solution éthanolique de DPPH° (0,2 mM).

Le mélange réactionnel a été incubé pendant 30 min dans l'obscurité à température ambiante. L'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 515 nm avec un spectrophotomètre. De l'éthanol au lieu de la solution d'échantillon a été utilisé comme témoin. La capacité de piégeage du DPPH° des échantillons testés a été mesurée comme une diminution de l'absorbance et a été calculée à l'aide de l'équation suivante :

$$\text{Scavenging activity}(\%) = \frac{A_c - A_s}{A_c} \times 100$$

Où A_c et A_s sont l'absorbance à 515 nm du contrôle et de l'échantillon, respectivement.

V-2- Test d'ABTS⁺ :

L'activité antiradicalaire ABTS⁺ [2,20 azino-bis-(acide 3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)] a été rapporté par Fernandes et al. (2013). Le radical ABTS⁺ a été préparé en mélangeant le persulfate de potassium (2,45 mM) et une solution d'ABTS⁺ (7 mM) (1:1, v/v), qui a été ensuite stocké dans un flacon ambré pendant au moins 16 h. La préparation de

radicaux libres a été dilué (200 μ l du radical a été dilué dans 10 ml d'éthanol). La densité optique obtenue ($0,700 \pm 0,05$), était la solution de travail. Un volume de 20 μ l d'extrait avec 1980 μ l de solution ABTS⁺ ont été mélangés et l'absorbance a été mesurée 7 min après le mélange à 734 nm.

Chapitre V :

Résultats et Discussion

I- Étude préliminaire :

I-1- Effet du type de solvant sur l'extraction :

Le choix du solvant pour l'EAU est dicté par la solubilité des extraits d'intérêt et par l'interaction entre le solvant et la matrice végétale. Deux solvants très utilisés dans l'extraction des composés phénolique par ultrason ont été testé (60% de méthanol et 60% d'éthanol) pour étudier l'influence du solvant sur la récupération du CPT lorsque les autres conditions d'extraction ont été définies comme suit : temps d'extraction 30 min et température 40°C. Le type de solvant a significativement influencé le rendement en composés phénoliques totaux CPT. Les résultats obtenus pour le type du solvant utilisés (méthanol ou éthanol) sont résumé dans le tableau VI.

D'après les résultats obtenus, c'est le méthanol qui a donné le meilleur rendement en CPT. Le méthanol aqueux a ensuite été choisi comme solvant pour la suite des essais.

Tableau VI : Effet de type du solvant sur l'extraction des composés phénoliques.

| | Méthanol (60%) | Ethanol (60%) |
|--------------------|----------------|---------------|
| CPT (µg/ml) | 145,45±1.23a | 92,18±2.32b |

I-2- Effet de la concentration du solvant sur l'extraction :

Différentes concentrations de solvants (méthanol 20%, 40%, 60% et 80%) ont été utilisées pour étudier l'influence de la concentration du solvant sur l'extraction des CPT lorsque les autres conditions d'extraction ont été définies comme suit : temps d'extraction 30min et température 40°C. Les résultats obtenus pour les différentes concentrations de méthanol sont résumés dans le tableau VII. D'après les résultats obtenus, c'est le méthanol 60% qui a significativement donné le meilleur rendement en CPT. L'intervalle méthanol 40% et 80% a été retenu comme domaine expérimental dans le plan d'expérience.

Tableau VII : Effet de la concentration de méthanol sur l'extraction des composés phénoliques.

| Methanol | 20% | 40% | 60% | 80% |
|--------------------|-------------|---------------|---------------|--------------|
| CPT (µg/ml) | 90,21±1,23d | 116,42±12,23c | 158,74±15,21a | 145,02±5,23b |

I-3- Effet de la température sur l'extraction :

Différentes températures ont été fixées à 20°C, 40°C, 60°C et 80°C pour étudier l'influence de la température sur la récupération des CPT lorsque les autres conditions d'extraction ont été définies comme suit : temps d'extraction 30min et proportion méthanol 60%. Les résultats obtenus pour les différentes températures sont résumés dans le tableau VIII.

Les résultats obtenus montrent que l'extraction des CPT a été fortement influencée par la température d'extraction. L'extraction diminue avec l'augmentation de la température de 20°C à 60°C après elle augmente légèrement avec l'augmentation de la température à 80°C. La gamme 20°C à 60°C a été sélectionnée pour le plan d'expérience.

Tableau VIII : Effet de la température sur l'extraction des composés phénoliques.

| | 20°C | 40°C | 60°C | 80°C |
|--------------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| CPT (µg/ml) | 151,30±6,23a | 134,18±3,56b | 103,98±5,56d | 110,47±2,25c |

I-4- Effet du temps sur l'extraction :

Le temps d'extraction est un autre facteur important qui influence le processus d'EAU. La quantité de composé phénolique extrait peut être influencée par l'augmentation du temps d'extraction, la récupération des CPT affectée par différents temps d'extraction (0, 10, 15, 20, 25, 30, 60 et 120 min) est indiquée dans le tableau IX, lorsque les deux autres facteurs concentration de solvant et température ont été fixés à 60% et 40°C respectivement.

Tableau IX : Effet de temps sur l'extraction des composés phénoliques totaux.

| | 0min | 10min | 15min | 20min | 25min | 30min | 60min | 120min |
|--------------------|-------------|---------------------------|---------------------------|---------------|--------------|-------------|----------------|-----------------|
| CPT (µg/ml) | 93,03±3.21d | 73,25 ± 4.23 ^e | 74,00 ± 6.23 ^e | 89,31 ± 7.23d | 104,73±1.23c | 94,20±2.56d | 132,16 ± 9.86b | 162,46 ± 10.23a |

II- Optimisation de la procédure d'extraction assistée par ultrason :

L'efficacité d'extraction du procédé à ultrason a été estimée en mesurant les teneurs en CPT de l'extrait de l'huile de lentisque. Un modèle polynomial de second ordre a été généré

avec des conditions opérationnelles : concentration de solvant A, température d'extraction B et temps d'extraction C.

Pour l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques, 15 essais ont été réalisés selon le plan Box Bhenken (Tableau X).

Tableau X : Plan d'expérimentation de l'optimisation de processus EAU des CPT à partir de l'huile de lentisque.

| Nombre d'essais | Facteurs | | | Réponse CPT (μg EAG/ml d'huile) | |
|-----------------|-----------------------------------|--|------------------------------|--|------------------|
| | Concentration en méthanol (A) (%) | Température (B) ($^{\circ}\text{C}$) | Temps d'extraction (C) (min) | Valeurs expérimentales | Valeurs prédites |
| 1 | 60 | 60 | 105 | 195,21 | 192,62 |
| 2 | 60 | 40 | 60 | 156,21 | 155,97 |
| 3 | 60 | 60 | 15 | 130,14 | 123,24 |
| 4 | 60 | 20 | 105 | 187,21 | 184,57 |
| 5 | 80 | 40 | 105 | 159,17 | 156,82 |
| 6 | 80 | 60 | 60 | 166,23 | 192,82 |
| 7 | 80 | 20 | 60 | 170,01 | 165,47 |
| 8 | 80 | 40 | 15 | 82,93 | 84,89 |
| 9 | 60 | 40 | 60 | 148,32 | 155,97 |
| 10 | 60 | 40 | 60 | 162,99 | 155,97 |
| 11 | 40 | 60 | 60 | 145,28 | 160,20 |
| 12 | 40 | 20 | 60 | 175,25 | 198,24 |
| 13 | 60 | 20 | 15 | 150,23 | 141,98 |
| 14 | 40 | 40 | 105 | 135,23 | 140,95 |
| 15 | 40 | 40 | 15 | 98,56 | 100,91 |

II-1- Ajustement du modèle :

Le tableau XI répertorie l'analyse de la variance (ANOVA) pour le modèle polynomial quadratique ajusté du rendement en CPT. Le test F a suggéré que le modèle avait

une valeur F très élevée et une valeur p très faible ($p < 0.0001$), indiquant que le modèle était très significatif. Le manque d'ajustement mesure l'échec du modèle à représenter les données dans le domaine expérimental à des points qui ne sont pas inclus dans la régression. La valeur p du manque d'ajustement était supérieure à 0,05, ce qui impliquait qu'elle n'était pas significative par rapport à l'erreur pure et indiquait que l'équation du modèle était adéquate pour prédire le rendement en CPT sous n'importe quelle combinaison de valeurs des variables.

Tableau XI : ANOVA pour l'effet de la concentration de méthanol, de la température et du temps d'extraction sur le rendement en CPT.

| Source | Sommes des carrés | Df | Moyenne carrés | Valeur F | Valeur p Prob > F | |
|--------------------------------------|-------------------|----|----------------|----------|-------------------|------------------|
| Modèle | 12542,31 | 9 | 1393,59 | 31,15 | 0,0007 | Significatif |
| Concentration de méthanol (A) | 72,12 | 1 | 72,12 | 1,61 | 0,2601 | |
| Température(B) | 262,66 | 1 | 262,66 | 5,87 | 0,0599 | |
| Temps d'extraction (C) | 5775,98 | 1 | 5775,98 | 129,10 | < 0,0001 | |
| AB | 171,48 | 1 | 171,48 | 3,83 | 0,1076 | |
| AC | 391,45 | 1 | 391,45 | 8,75 | 0,0316 | |
| BC | 197,26 | 1 | 197,26 | 4,41 | 0,0898 | |
| A² | 1179,26 | 1 | 1179,26 | 26,36 | 0,0037 | |
| B² | 3073,99 | 1 | 3073,99 | 68,71 | 0,0004 | |
| C² | 989,00 | 1 | 989,00 | 22,11 | 0,0053 | |
| Résiduel | 223,70 | 5 | 44,74 | | | |
| Manque d'ajustement | 80,23 | 3 | 26,74 | 0,37 | 0,7852 | Non significatif |
| Erreur pure | 143,47 | 2 | 71,74 | | | |
| Erreur pure | 12766,02 | 14 | | | | |

Pour évaluer la qualité de l'ajustement du modèle, différentes analyses statistiques descriptives telles que le coefficient de détermination (R^2), le coefficient de détermination ajusté ($AdjR^2$), le coefficient de détermination de prédiction ($Pred. R^2$), la précision adéquate

(Adeq Precision) et le coefficient de variation (CV) ont été utilisés (Tableau XII). La valeur R^2 était de 0,9825, ce qui implique que la variation de l'échantillon était statistiquement significative à 98% et que seulement 2% (approximativement) de la variance totale ne pouvait être expliquée par le modèle. En d'autres termes, un coefficient de détermination proche de 1 indique un degré élevé de corrélation entre les données observées et prédites (Figure N°13). L'Adj R^2 et le Pred R^2 de CPT étaient également satisfaisants pour confirmer l'importance du modèle. Le Pred R^2 était en accord raisonnable avec l'Adj R^2 , la différence entre les deux paramètres est inférieure à 0,10.

Le coefficient de variation (CV) décrit la mesure dans laquelle les données ont été dispersées. En général, une petite valeur de CV donne une meilleure reproductibilité, et un CV élevé indique que la variation de la valeur moyenne est élevée et ne développe pas de manière satisfaisante un modèle de réponse adéquat. En règle générale, le CV ne devrait pas être supérieur à 10%. Le CV se situait dans la plage acceptable (**Liyanapathirana et Shahidi, 2005; Prakash Maran et Manikandan, 2012**).

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

| | | | |
|----------------|--------|-------------------|--------|
| Std.Dev | 6,69 | R-carrés | 0,9825 |
| Moyenne | 150,34 | R-carré ajusté | 0,9509 |
| CV % | 4,45 | R-carré prédictif | 0,8742 |
| Adeq précision | 19,894 | | |

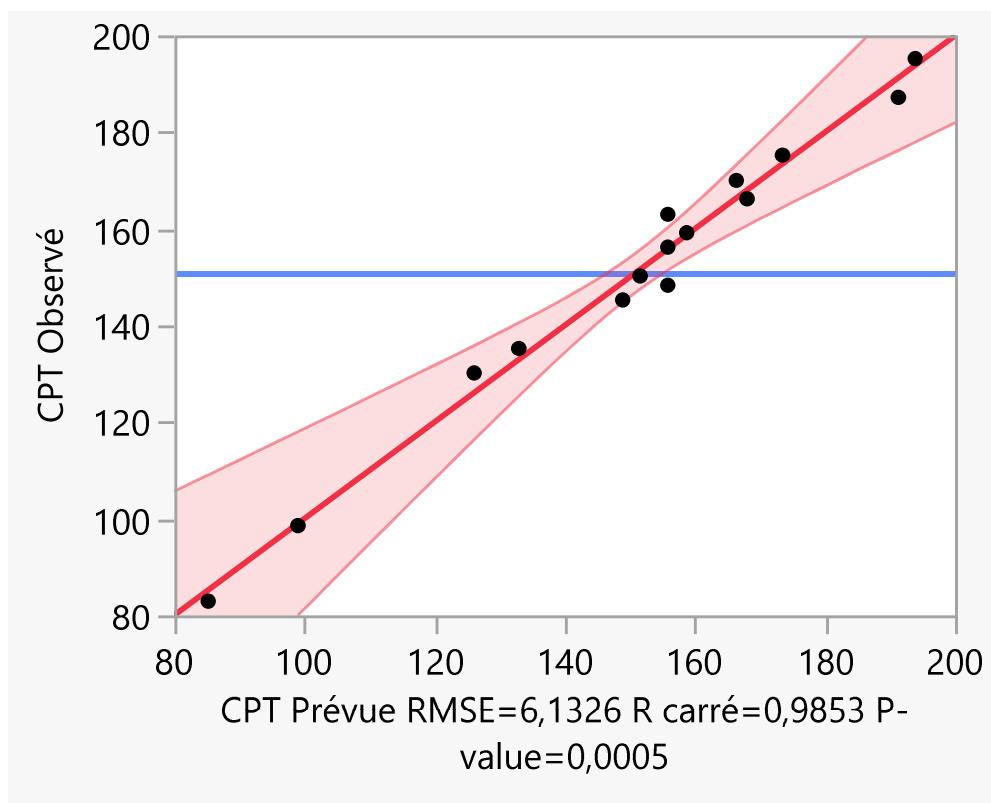


Figure N°13 : Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prédites.

II-2- Signification des variables :

La signification de chaque coefficient a été déterminée en utilisant la valeur p du tableau X. La valeur p est utilisée comme un outil pour vérifier la signification de chaque coefficient et la force d'interaction entre chaque variable indépendante. La valeur p inférieure à 0,05 indique que les termes du modèle sont significatifs. Dans ce cas, le temps d'extraction et la température d'extraction étaient les principaux facteurs affectant l'extraction du CPT suivie de la concentration de solvant puis des termes quadratiques de la fraction éthanol et du temps d'irradiation.

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

$$\text{CPT} = +153,21 + 26,87 * C + + 9,89 * AC - 17,87 * A^2 + 28,85 * B^2 - 16,37 * C^2 \quad (\text{Équation 1})$$

II-3- Analyse de la surface de réponse :

La surface de réponse 3D est la représentation graphique en trois dimensions ; elle a été utilisée pour déterminer l'effet individuel et cumulatif de l'interaction mutuelle entre les variables. La surface de réponse analyse la nature géométrique de la surface, les maxima et les minima de la réponse. Elle fournit une méthode permettant de visualiser la relation entre les réponses et les niveaux expérimentaux de chaque variable et le type d'interactions entre deux variables d'essai (Zhong et Wang, 2010).

La figure N°14 est un graphique de surface de réponse montrant l'interaction entre la concentration de méthanol et la température d'extraction sur le rendement de CPT en maintenant le temps de sonication constant. En augmentant la concentration de méthanol et la température d'extraction dans le domaine expérimental choisi. Le rendement d'extraction augmente jusqu'à environ 198,19 avec la concentration 70,13% méthanol après le rendement diminue légèrement avec l'augmentation de la concentration de méthanol. Par contre, le rendement CPT diminue de 195 à 150 avec l'augmentation de la température de 20°C à 40°C, après la température 40°C le rendement en CPT augmente à 198,19 avec l'augmentation de la température à 60 °C.

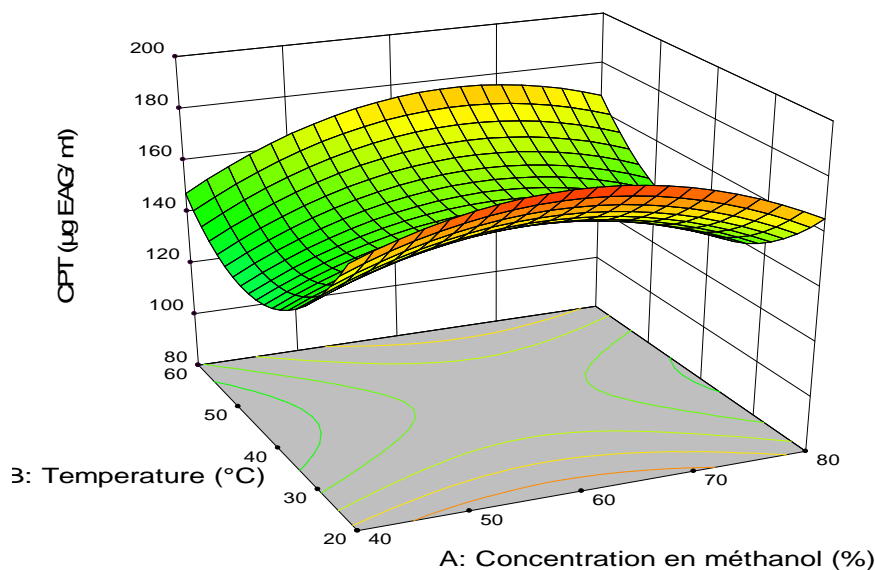


Figure N°14 : Courbe 3D montrant l'effet d'interaction de paramètres de concentration de méthanol et de température sur le rendement en CPT.

La figure N°15 est un graphique de surface de réponse indiquant qu'en augmentant la concentration en méthanol et en prolongeant le temps, le rendement d'extraction (CPT) augmente progressivement pour atteindre son maximum 198,19 à temps 100,15min et méthanol 70,13%. Cette quantité maximale de CPT subit une légère décroissance en augmentant le temps de sonication et la concentration de méthanol.

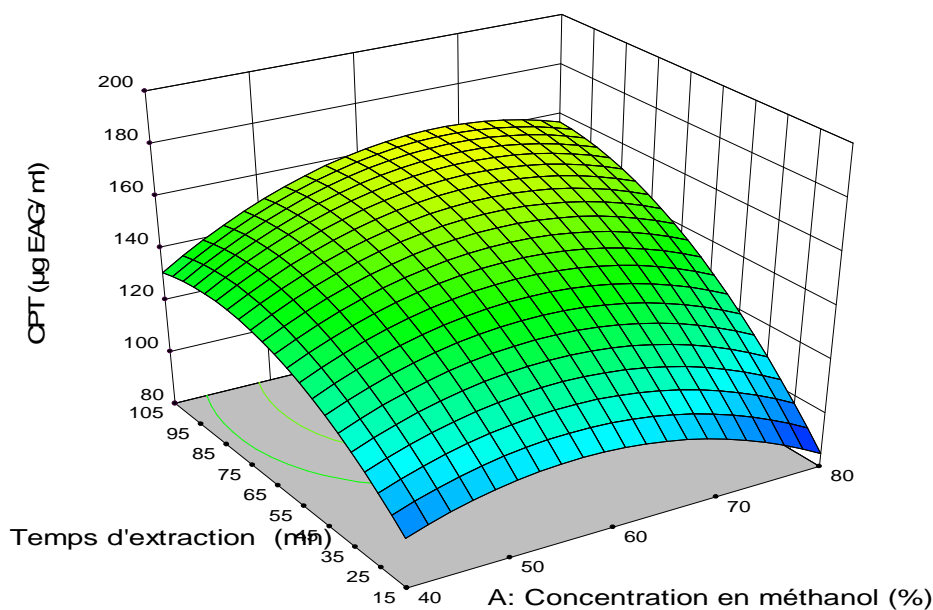


Figure N°15 : Courbe 3D montrant l'effet d'interaction de paramètre de concentration de méthanol et de temps d'extraction sur le rendement en CPT.

La figure N°16 montre l'effet de la température et le temps d'extraction sur la quantité en CPT. Le rendement de CPT augmente avec le prolongement du temps d'extraction. La meilleure extraction de CPT a été obtenue à 100,15min et température 60°C.

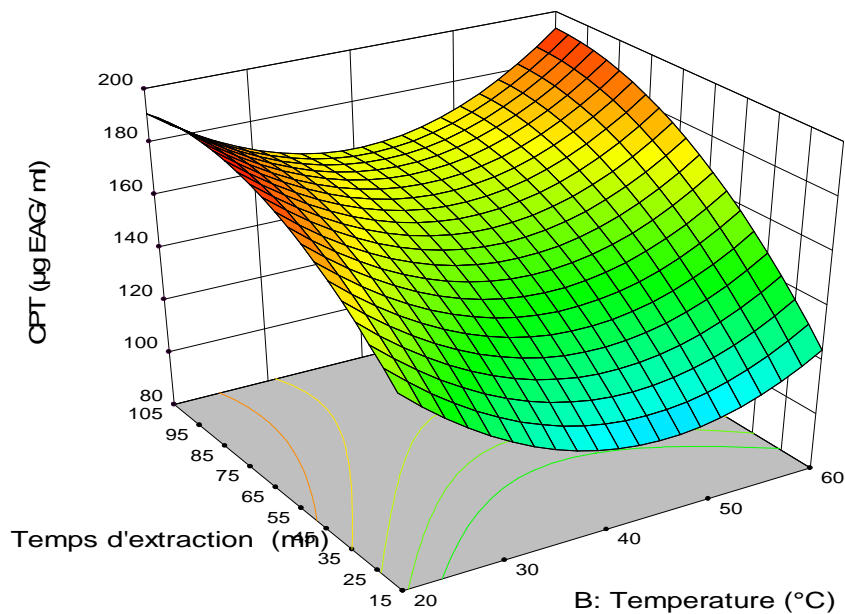


Figure N°16: Courbe 3D montrant l'effet d'interaction de paramètre de température et de temps d'extraction sur le rendement en CPT.

III- Conditions d'extraction optimales :

En utilisant un modèle quadratique pour décrire l'expérience, nous avons optimisé trois variables expérimentales pour une extraction maximale des composés phénoliques des huiles de *Pistacia lentiscus L.*

L'optimisation à l'aide de la fonction de désirabilité (Figure N°17) a indiqué que les conditions optimales pour l'extraction des composés phénoliques avec une désirabilité de... étaient les suivantes :

- Solvant d'extraction : Méthanol 70,13%
- Température d'extraction : 60°C
- Temps d'extraction : 100,15min

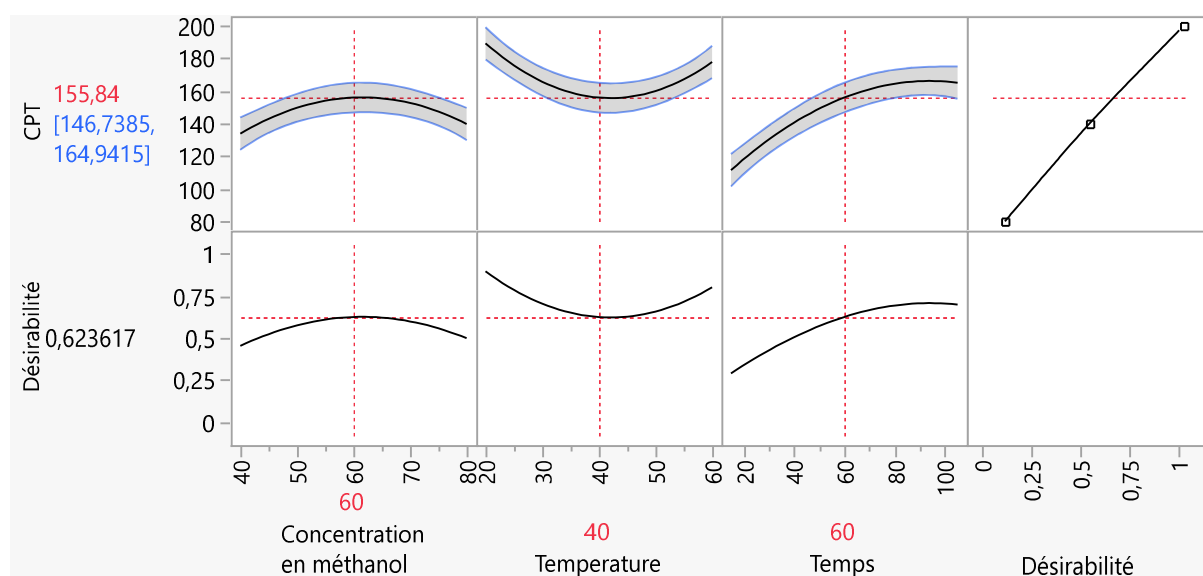


Figure N°17: Profils pour les valeurs prédites et la fonction de désirabilité.

IV- Validation du modèle :

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

Tableau XIII : Conditions optimales pour l'extraction des CPT (μg EAG/ml) de l'huile de *Pistacia lentiscus* L.

| | Concentration de méthanol (%) | Température ($^{\circ}\text{C}$) | Temps d'extraction (min) | Valeur prédite (μg EAG/ml) | Valeur Expérimentale (μg EAG/ml) |
|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|--------------------------|--|--|
| CPT ($\mu\text{g}/\text{ml}$) | 70,13 | 60 | 100,15 | 198,75 \pm 26,99 | 190,96 \pm 10,25 |

V- Evaluation de l'activité antioxydante :

Les extraits de l'huile de lentisque présentent une activité antioxydante vis-à-vis du radical DPPH et ABTS très proche à celle du Trolox (l'acide 3,4-dihydro-6-hydroxy-2,5,7,8-tétraméthyl-2H-1-benzopyran-2-carboxylique), qui est un analogue hydrophile de la vitamine E. Cela montre que l'extrait de l'huile de lentisque est riche en molécules antioxydantes.

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau XIV.

Tableau XIV : Activité antioxydante de l'extrait d'huile de lentisque comparé au Trolox.

| | Extrait d'huile de lentisque | Trolox |
|--------------------------|-------------------------------------|---------------|
| IC50 DPPH (mg/ml) | 0,654 | 0,450 |
| IC50 ABTS (mg/ml) | 0,253 | 0,160 |

Conclusion

Conclusion :

L'objectif de cette étude était de mettre en œuvre l'optimisation de l'extraction des antioxydants par bain ultrason à partir de l'huile de lentisque (*Pistacialentiscus L.*). On a choisi cette espèce car elle est utilisée traditionnellement et depuis de longues dates par les communautés villageoises comme plantes médicinales.

La technique d'extraction assistée par ultrason (EAU) a été développée pour extraire les antioxydants de l'huile de lentisque. Les paramètres de fonctionnement ont été optimisés en utilisant une méthodologie de surface de réponse (MRS). Le MRS a été utilisé avec succès pour étudier l'influence de la concentration de méthanol, température et temps d'extraction sur le rendement en CPT de l'extrait de l'huile de lentisque. La valeur maximale du composé phénolique de l'huile de lentisque était 198.19 µg/ml. Les conditions d'extraction optimales étaient les suivantes: méthanol 70.13%, temps d'extraction 100.15min et température d'extraction 60°C. Ce qui montre que l'extrait de l'huile de lentisque de la commune de Barbacha est très riche en composés phénoliques.

L'EAU a montré des avantages évidents en termes d'efficacité d'extraction car les solutés diffusent plus rapidement dans le milieu d'extraction ce qui réduit le temps d'extraction et la température de l'extraction, ce qui permet d'extraire des substances thermosensibles. Les résultats ont démontré que l'EAU pouvait être une méthode fiable pour l'analyse quantitative des composés phénoliques dans l'huile de lentisque.

Enfin, il serait aussi intéressant d'orienter les recherches vers la réalisation des études approfondies et complémentaires de la composition, de l'activité antibactérienne et anti-inflammatoire des composés phénoliques. Il est aussi important de suivre cette étude par des applications *in vivo* afin d'évaluer l'effet de l'huile de lentisque sur l'organisme vivant.

Références bibliographiques

A

Amyloid, D. A., (2002). β -peptide (1–42): Induced oxidative stress and neurotoxicity: Implications for neurodegeneration in Alzheimer's disease brain. *Free Radical Research*.

Angellier, H., (2005). Thèse doctorat. Nanocristaux d'amidon de maïs cireux pour applications aux composites, Université Grenoble 1.

Assami, K., (2014). Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes du *Carum carvi* L d'Algérie. Thèse de doctorat.

Assimopoulou, A. N., & Papageorgiou, V. P., (2005). GC-MS analysis of penta- and tetra-cyclic triterpenes from resins of *Pistacia* species. Part I. *Pistacia lentiscus* var. Chia. *Biomedical Chromatography*.

B

Baba Aissa, F., (2000). Encyclopedie des plantes utiles. Flore d'Algérie et du Maghreb, substances végétales d'Afrique d'Orient et d'Occident. Ed. Librairie moderne Rouiba.

Baytop, T., (1999). Therapy with medicinal plants in turkey- Past and Present, Second ed. Nobel Publishers, Istanbul.

Belfadel, F., (2009). Huile de fruits de *Pistacia lentiscus* Caractéristiques physico-chimiques et effets biologiques (Effet cicatrisant chez le rat). Mémoire magister en chimie organique, Université Constantine.

Belhadj, S., (2000). Les pistacheraies algériennes: Etat actuel et dégradation, Centre Universitaire de Djelfa, Algérie.

Bensalem, G., (2015). L'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L) dans l'Est Algérien : caractéristiques physico-chimiques et composition en acide gras. Mémoire Magister en Sciences Alimentaires, option de Technologies Alimentaires, Université Constantine 1.

Boukeloua, A., (2009). Caractérisation botanique et chimique et évaluation pharmacotoxicologique d'une préparation topique à base de l'huile de *pistacia lentiscus* L. thèse magister mémoire en Biologie. Spécialité : Biotechnologie végétal. Université Mentouri Constantine.

Bouziane, L., (2008). Étude des effets des paramètres opératoires de l'élimination du cadmium et du zinc par la sciure de bois. Application du plan d'expériences de PlackettBurman ». Université de Badji Mokhtar Annaba, thèse de doctorat.

C

Charef, M., Yousfi, M., Saidi, M., Stocker, P., (2008). Determination of the Fatty Acid Composition of Acorn (*Quercus*), *Pistacia lentiscus* Seeds Growing in Algeria, Springerlink.

Chemat, F., Huma, Z., Khan, M.K., (2011). Applications of ultrasound in food technology: Processing, preservation and extraction. *Ultrasonincs Sonochemistry*.

Chemat, F., (2009). « Essential oils and aromas: green extraction and applications ». HKB Publishers, Dehradun, India.

Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J., Wang, Z., (2007). Optimization of ultrasoundassisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry Ultrason. Sonochem.

Cherif, M., (2016). Effets cicatrisants de produits a base d'huile de lentisque (*Pistacia lentiscus* L) sur les brulures expérimentales chez le rat. Th. Doct. : Université des Frères Mentouri. Constantine.

Cheung, H. M., Kurup, S., (1994). Sonochemical Destruction of CFC 11 and CFC 113 in Dilute Aqueous Solution. Environ. Sci. Technol.

D

Dai, Q., Borenstein, A. R., & Wu, Y., (2006). Fruit and vegetable juices and Alzheimer's disease: The Kame project. American Journal of Clinical Nutrition.

Davidson, D.F.D., (1948). Report on the gum mastic industry in Chios. Bulletin of the Imperial Institute.

Debbabi, H., Nemri, K., Riahi, H., (2017). Effets antimicrobiens des extraits foliaires de *Pistacia lentiscus* L. dans des escalopes de dinde. Journal of new sciences.

Dhifi, W., Jelali, N., Chaabani, E., Beji, M., Fatnassi, S., Omri, S., Mnif, W., (2013). Chemical composition of Lentisk (*Pistacia lentiscus* L.) seed oil. *Afr. J. Agric. Res.*

E

Eskilsson, C.S., Bjorklund, E., (2000). « Analytical-Scale Microwave-Assisted Extraction », *Journal of Chromatography A*.

F

Faucher, J., (2006). Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue. Thèse de Doctorat, Institut national polytechnique de Toulouse.

Fernandes, L., Casal S., Cruz, R., Pereira, JA., Ramalhosa, E., (2013). Seed oils of ten traditional Portuguese grape varieties with interesting chemical and antioxidant properties. *Food Res Int.*

Ferreira, S. L., Junior, M. M. S., Felix, C. S., da Silva, D.L., Santos, A.S., Neto, J.H.S., Souza, A. S., (2019). Multivariate optimization techniques in food analysis—A review. *Food chemistry*.

G

Garnier, G., Bézanger-Beauquesne, L., Debraux, G., (1961). Ressources médicinales de la flore Française. Edition, Vigot Frères Editeurs.

Gharby, S., (2012). Contribution a la valorisation de l'huile d'argane. Influence de l'origine du fruit (terroir, forme) et de la méthode d'extraction sur la composition chimique, les caractéristiques organoleptiques et la stabilité de l'huile d'argane. Thèse de doctorat. Discipline : Chimie Organique. Spécialité : Phytochimie. Université Mohammed V-Agdal. Faculté des sciences. Rabat.

Gee, J.M., Jonhson, I.T., (2001). Polyphénolic compound : interactions with the gut and implication for human health. *Current Medicinal Chemistry*.

Goel, M., Hongqiang, H., Mujumdar, A.S., Ray, M.B., (2004). Sonochemical decomposition of volatile and non-volatile organic compounds: a comparative study. *Water Res.*

Goupy, J., (2006). «Introduction aux Plans d'expériences». Dunod. Paris.

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

H

Habbi, Cherifi, A., (2015). Etude de la dynamique de la population du parasite *Varroa destructor* de l'abeille domestique (*Apis mellifera*) et évaluation de l'efficacité de quelques huiles essentielles dans la lutte contre ce parasite. Mémoire de Magister sciences biologiques. Université Mouloud Maameri de Tizi-ouzou.

Haddadi-Guemghar, H., Janel, N., Dairou, J., Remini, H., & Madani, K., (2014). Optimisation of microwave-assisted extraction of prune (*P. runus domestica*) antioxidants by response surface methodology. *International Journal of Food Science & Technology*.

Halliwell, B., & Gutteridge, J.M.C., (1999). Free radicals in biology and medicine (3rd ed). Oxford, United Kingdom: Clarendon Press.

Haunold, C., (1991). « Extraction de pyréthrinés : Analyse du procédé discontinu et de l'influence des ultrasons, modélisation et mise en œuvre d'un procédé continu ». Thèse INP Toulouse.

Herrera, M.C., Luque de Castro, M.D., (2005). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from strawberries prior to liquid chromatographic separation and photodiode array ultraviolet detection. *J. Chromatogr. A*.

J

Julve, Ph., (1998). Base flore. Index botanique, écologique et chronologique de la flore de France.

K

Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., & Heinonen, M., (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of agricultural and food chemistry*.

Kapustina, O.A., (1973). « Degassing of Liquids, Physical Principles of Ultrasonic Technology, Chapter 5, ed. L.D. Rozenberg Plenum Press, New York, U.S.A ».

Karabegović, I.T., Stojičević, S.S., Veličković, D.T., Nikolić, N.Č., Lazić, M.L., (2013). Optimization of microwave-assisted extraction and characterization of phenolic compounds in cherry laurel (*Prunus laurocerasus*) leaves. *Separation and Purification Technology*.

Karam, S., (2004). Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt. Thèse de Doctorat de Electronique des hautes fréquences et optoélectroniques, faculté de des Sciences et Techniques.

Karleskind, A., (1992). Manuel des Corps Gras, Tech. & Doc. Lavoisier, tome (I-II).

Katan, MB., Zock, PL., et Mensink, RP., (1994). Effects of fats and fatty acids on blood lipids in humans: an overview. *Amer. J. Clin. Nutr.*

Krichene, D., Taamalli, W., Daoud, D., Salvador, M.D., Fregapane, G., & Zarrouk, M., (2007). Phenolic compounds, tocopherols and other minor components in virgin olive oils of some Tunisian varieties. *Journal of Food Biochemistry*..

L

Li, W., Gao, Y., Zhao, J., & Wang, Q., (2007). Phenolic, flavonoid, and lutein ester content and antioxidant activity of 11 cultivars of Chinese marigold. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.

Liangfu Z., Zelong, L., (2008). Optimization and comparison of ultrasound/microwave assisted extraction (UMAE) and ultrasonic assisted extraction (UAE) of lycopene from tomatoes. *Ultrason. Sonochem.*

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

M

Maran, J.P., & Manikandan, S., (2012). Response surface modeling and optimization of process parameters for aqueous extraction of pigments from prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) fruit. *Dyes and Pigments*.

Marina, A.M., Che Man, Y.B., Nazimah, S.A.H., & Amin, I., (2009). Antioxidant capacity and phenolic acids of virgin coconut oil. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*.

Mason, T.J., Lorimer, J.P., (1988). « Sonochemistry: Theory, application and uses of ultrasound in chemistry ». Ellis Horwood limited.

Mason, T. J., (1999). Sonochemistry. Oxford Science Publications, New York, U.S.A.

Mason, T. J., Paniwnik, L. Chemat, F., (2003). Chapter 16: « Ultrasound as a preservation technique » in « Food Preservation Techniques ». P. Zeuthen & L. Bogh-Sorensen (Ed), CRC Press. Cambridge, U.K.

Mezni, F., Maaroufi, A., Msallem, M., Khouja, M.L. et Khaldi, A., (2012). Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities of *Pistacia lentiscus* L. fruit oils. Journal of Medicinal Plants Research.

Mezni, F., Slama, A., Ksouri, R., Hamdaoui, G.H., Larbi Khouja, M., Khaldi, A., (2018). Phenolic profile and effect of growing area on *Pistacia lentiscus* seed oil. Food Chem.

Mouhajir, F., Hudson, J. B., Rejdali, M., Towers, G.H.N., (2001). Multiple antiviral activities of endemic medicinal plants used by Berber peoples of Morocco. Pharm. Biol.

N

Naz, S., Sheikh, H., Siddiqi, R., & Sayeed, S.A., (2004). Oxidative stability of olive, corn and soybean oil under different conditions. Food Chemistry.

P

Pierre, J.S., (2008). Les plans d'expérience initiation à leur analyse et à leur construction.

R

Rauf, A., Patelb, S., Uddin, G., Siddiqui, Bina, S., Ahmad, B., Muhammad, N., Mabkhotg, Y., Ben Haddah, T., (2017). Phytochemical, ethnomedicinal uses and pharmacological profile of genus *Pistacia*. Biomedicine & Pharmacotherapy.

Rodrigues, S., Pinto, G.A.S., Fernandes, F.A.N., (2008). Optimization of ultrasound extraction of phenolic compounds from coconut (*cocos nucifera*) shell powder by response surface methodology. Ultrason. Sonochem.

Roussel, A. M., & Ferry, M., (2002). Stress oxydant et vieillissement. Nutrition clinique et métabolisme.

S

Shahidi, F., (2000). Antioxidants in food and food antioxidants. Nahrung.

Steinberg, D., & Lewis, A., (1997). Oxidative modification of LDL and atherogenesis. Circulation.

Suslick, K.S., (1989). The chemical effects of ultrasound. Sci. Am. February.

Suslick, K.S., (2001). Encyclopedia of Physical Science and Technology, 3rd Ed. «Sonoluminescence and Sonochemistry». R.A. Meyers (ed), Academic Press, Inc. San Diego, California, U.S.A.

T

Tanker, M., Tanker, N., (1990). Pharmacognosy. Ankara: Ankara University Press.

Trabelsi, H., Cherif, O. A., Sakouhi, F., Villeneuve, P., Renaud, J., Barouh, N., Boukchina, S., Mayer, P., (2012). Total lipid content, fatty acids and 4-desmethylsterols accumulation in developing fruit of *Pistacia lentiscus* L. growing wild in Tunisia. Food Chemistry.

Tinsson, W., (2010). Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques, Mathématiques et Applications 67, DOI 10.1007/978-3-642-11472-41, c_ Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

V

Vilarem, G., Dumont, V., Gaset, A., (1997). Extraction assistée par ultrasons. Oléagineux, Corps Gras, Lipides, Dossier : « Evolution technologiques et Corps Gras ».

W

Wei Li., Yanxiang, Gao., Jian Zhao et Qi Wang., (2007). Phenolic, Flavonoid and Lutein Ester Content and Antioxydant Activity of 11 Cultivars of Chinese Marigold, J. Agric. Food Chem.

Y

Yang, YC., Wei, MC., Huang, TC., Lee, SZ., et Lin, SS., (2013). Comparaison des méthodes d'extraction assistées par ultrasons modifiées et traditionnelles pour l'extraction de la baicaline et de la baicaléine à partir de Radix Scutellariae. Cultures et produits industriels.

Z

Zhong, k., Wang, Q., (2010). Optimization of ultrasonic extraction of polysaccharides from dried longan pulp using response surface methodology. Carbohydrate Polymers.

Zohary, M., (1952). Une étude monographique du genre Pistacia. Palestine Journal of Botany (Série Jérusalem).

Résumé

Dans cette étude, l'extraction assistée par ultrason (EAU) des composés phénoliques de l'huile de lentisque a été optimisée par la méthodologie de surface de réponse (MSR). L'effet des trois variables indépendantes, concentration de solvant, le temps d'extraction et la température d'extraction sur le rendement de l'extraction en TPC a été étudié. Les conditions optimales de EAU permettant d'obtenir un meilleur rendement en CPT sont méthanol 70.13%, temps d'extraction 100.15min et température d'extraction 60°C. Les valeurs expérimentales sont proches des valeurs prédites ce qui confirme la validité du modèle mathématique.

Mots clés : Optimisation, Extraction Assistée par Ultrason, Composés phénoliques totaux, L'huile de lentisque, Méthodologie de surface de réponse.

Abstract

In this study, ultrasound assisted extraction (UAE) was used to extract phenolic compounds from mastic tree oil by response surface methodology (RSM). The effect of the three independent variables, solvent concentration and extraction time and extraction temperature on the yield of extraction was studied. The optimum UAE conditions extractions to obtain a better yield of TPC are 70.13% methanol, extraction time of 100.15min and extraction temperature of 60°C. The experimental values were reasonably close to the predicted values confirming the validity of the predicted models.

Keywords: Optimization, Ultrasonic Assisted Extraction, Total Phenolic Compounds, Mastic Oil, Response Surface Methodology.