

République algérienne démocratique et populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la
recherche scientifique Université a. Mira de Bejaia



Faculté de Technologie
Département de Génie
des procédés

Mémoire

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE Master

Domaine : Science et Technologie Filière : Génie des
Procédés Spécialité : Génie chimique

Présenté par

LAMRANI Katia et MAMMERI Lilia

Thème

Modélisation et optimisation du procédé d'extraction des composés phénoliques par infusion
des feuilles de laurier et d'hibiscus sbdariffa en utilisant les plans d'expériences

Soutenue le 06/07/2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Etablissement	Rôle
M ^{me} Senhadji O.	Professeur	Université de bejaia	Président
Mr Sellami F.	MCB	Université de bejaia	Examineur
Mr Kachbi A.	MCA	Université de bejaia	Encadrant
Mr Arezoug D.	Doctorant	Université de bejaia	Co- Encadrant

Année Universitaire : 2021/2022

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, aussi bien pour ses conseils, sa disponibilité, son soutien, son aide et surtout pour sa patience, soyez assuré, monsieur, de notre estime et de notre profond respect.

Nous tenons à remercier Mr Arezoug Djoumad notre Co-encadreur. Il nous a bénéficié de son savoir scientifique pour ses conseils avisés, sa compréhension, sa patience et son aide précieuse.

Notre sincère gratitude va aussi aux membres du jury à Mme O. Senhadji et Mr F. Sellami, d'avoir accepté de juger ce présent travail.

Nous remercions également toute l'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, qui nous ont aidé et facilité la mise en œuvre expérimentale dans les laboratoires 08 et 19.

Sans oublier à remercier nos enseignants qui ont assisté 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.

Dédicace

Je dédie ce travail à :

A mes très chers parents

A mon père « Hakim » Mon plus haut exemple et mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras et pour son enseignement continu.

A ma mère « fatma » Pour son affection, sa patience, sa compréhension, sa disponibilité, son écoute permanente et son soutien. Mes chers parents que Dieu vous garde ;

Même si aucun dédicace, aucun mot ne pourraient vous exprimer la valeur, la gratitude et l'amour que je vous porte. Mais Chaque ligne de ce travail, chaque mot et chaque lettre vous expriment la reconnaissance, le respect, l'estime et le merci d'être mes parents.

A mes frères et sœur « Massifias, Sintia, Adem »

Veillez trouver dans ce travail un modeste témoignage de mon admiration et toute ma gratitude, de mon affection la plus sincère et de mon attachement le plus profond.

A mes grands-parents.

Je vous dédie ce travail en témoignage de gratitude d'estime et d'attachement. Puisse dieu vous accordez santé, longue vie et prospérité.

À tous mes cher(e)s tentes et oncles.

À celui que j'aime beaucoup, celui qui m'encourage dans mes faiblesses et qui m'a soutenue tout au long de ce projet mon homme «Massinissa».

A mes ami(e)s

À mon binôme Lília, à mes collègues ;

En fin, à tous ceux qui m'aiment.

LAMRANI Katia

Dédicace

Je dédie mon travail,

A celui qui m'a porté d'un affaiblissement à un affaiblissement, à celui qui a été pour m'éclairer le chemin, à celui qui m'a donnée le courage et la sécurité, à celui qui a été patient durant toutes ces années et qui a tant sacrifié pour moi. A toi mon cher père.

A la lumière de ma vie, ma source de tendresse ma chère mère mon signe d'amour et de reconnaissance qui m'a apporté son appui durant toute mes années d'études et qui a fait tout pour ma réussite Que travail, soit pour vous une petite compensation et reconnaissance envers ce que vous avez fait d'incroyable pour moi.

A mes chère frères Fares et Sami .et à ma chère et unique sœur Linda qui m'ont toujours soutenus et toujours étaient présent avec moi.

A ma chère ami (e)s.

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

Et tous mes amis de l'université de Bejaia.

MAMMERI Lilia

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale. 1

Chapitre 1. Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur le laurier. 2

1.1.1. Définition du laurier. 2

1.1.2. Historique et origine du laurier. 2

1.1.3. Caractéristiques morphologiques du laurier. 3

1.1.4. Utilisation. 4

1.1.5. Composition chimique. 5

1.1.6. Types de laurier. 5

1.1.7. Importance et commercialisation du laurier. 5

1.2. Généralités sur l'hibiscus sabdariffa. 6

1.2.1. Définition et origine.	6
1.2.2. Appellation.	6
1.2.3. Botanique.	7
1.2.4. Description et propriétés.	7
1.2.5. Utilisation de l'hibiscus et ses bienfaits.	11
1.3. Les composés phénoliques.	13
1.3.1. Définition.	13
1.3.2. Rôle et intérêt des composés phénoliques.	13
1.3.3. Classification.	15
1.3.3.1. Les acides phénoliques.	15
1.3.3.2. Les tanins.	16
1.3.3.3. Les flavonoïdes.	16
1.3.4. Stress oxydatif.	18
1.3.5. Radicaux libres.	19
1.4. Méthodes d'extraction.	19
1.4.1. Définition.	19
1.4.2. Intérêt de l'extraction.	19
1.4.3. Type d'extraction.	19

1.5. Spectrophotométrie.	20
1.5.1. Définition.	21
1.5.2. Principe.	21
1.5.3. Appareillage.	22
1.5.4. Application de la spectrophotométrie.	23
1.6. Plans d'expériences.	23
1.6.1. Introduction.	23
1.6.2. Terminologie.	24
1.6.3. Classification des plans d'expériences.	25
Chapitre 2. Matériels et méthodes	
2.1. Logiciels, appareillage et matériels utilisés.	30
2.2. Produit chimique.	30
2.3. Prétraitements du matériel végétal.	31
2.3.1. Laurier.	31
2.3.2. L'oseille de Guinée.	31
2.4. Préparation des solutions.	32
2.5. Quantification et dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux.	32
2.5.1. Dosage des polyphénols totaux.	32

2.5.2. Principe des polyphénols totaux	32
2.5.3. Protocole des polyphénols	32
2.5.4. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.	33
2.5.5. Préparation de la solution mère de l'acide gallique.	33
2.5.6. Détermination des étalons.	33
2.5.7. Calcul de la teneur en polyphénols.	34
2.5.8. Dosage des flavonoïdes.	35
2.5.8.1. Principe de dosage des flavonoïdes.	35
2.5.8.2. Protocole de dosage des flavonoïdes.	35
2.5.8.3. Courbe d'étalonnage.	35
2.5.8.4. Préparation de la solution mère de quercétine.	35
2.5.8.5. Préparation des étalons.	36
2.5.8.6. Dosage des étalons.	36
2.5.8.7. Calcul de la teneur en flavonoïdes.	36
2.6.Évaluation de l'activité antioxydante.	37
2.6.1. Principe.	37
2.6.2. Calcul des IC50.	37
2.6.3. Protocole.	37

2.7. Application des plans d'expériences.	37
---	----

Chapitre 3. Résultats et Discussions

3.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux.	40
---	----

3.1.1. Dosage des polyphénols totaux.	40
---------------------------------------	----

3.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux.	41
---------------------------------------	----

3.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences.	41
--	----

3.2.1. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.	41
---	----

3.2.2. Laurier.	42
-----------------	----

3.2.2.1. Elaboration du modèle de 1er degré.	43
--	----

3.2.2.2. Elaboration du modèle de 2ème degré.	46
---	----

3.2.2.3. Test du pouvoir prédictif des modèles.	48
---	----

3.2.3. Hibiscus (premier matrice).	49
------------------------------------	----

3.2.3.1. Elaboration du modèle de 1er degré.	49
--	----

3.2.3.2. Elaboration du modèle de 2ème degré.	52
---	----

3.2.3.3. Test du pouvoir prédictif des modèles.	55
---	----

3.2.4. Hibiscus (deuxième matrice).	56
-------------------------------------	----

3.2.4.1. Elaboration du modèle de 1er degré.	56
--	----

3.2.4.2. Elaboration du modèle de 2ème degré.	59
---	----

3.2.4.3. Test de validité du modèle de second degré.	60
3.2.4.4. Test du pouvoir prédictif des modèles.	61
3.2.5. Optimisation du processus d'extraction des polyphénols de laurier.	62
3.2.6. Discussion générale.	64
3.3. Teneurs des PT des extraits des deux plantes.	64
3.3.1. Teneurs des PT.	65
3.4. Activité antioxydant.	65
3.4.1. Pouvoir anti-radicalaire DPPH.	65
3.4.2. Détermination d'IC50.	66
Conclusion générale	67
Références bibliographiques	

**Liste des
abréviations, figures
et tableaux**

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

ICP : Induction à Couplage Inductif

NS: Non Significatif

PE : Plan d'Expérience

PT : Polyphénols Totaux

S : Significatif

TFT : Teneur en Flavonoïdes Totaux

TPT : Teneur en Polyphénols Totaux

UV : Ultra-Violet

Liste des figures

Figure 1 : Distribution des Lauracées à travers le monde	2
Figure 2 : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i>	4
Figure 3 : L'hibiscus Sabdariffa.....	6
Figure 4 : Thé d'Hibiscus sabdariffa et sachets de thé d'Hibiscus.....	7
Figure 5 : Tige, feuille et calice de la plante Hibiscus sabdariffa	8
Figure 6 : Fleur d'Hibiscus sabdariffa	9
Figure 7 : Les graines d'Hibiscus sabdariffa obtenue manuellement à partir de la capsule in Terengganu. Malaisie	9
Figure 8 : Partie calice et fruit	10
Figure 9 : L'infusion d'H.sabdariffa " le Bissap"	11
Figure 10 : Structure du noyau phénol	13
Figure 11 : classification des polyphénols	15
Figure 12 : Squelette des acides phénoliques	16
Figure 13 : Squelette des Tanins	16
Figure 14 : Squelette de base des flavonoïdes.....	17
Figure 15 : Structure de quelques classes des flavonoïdes.....	18
Figure 16 : Appareil UV-visible.....	21
Figure 17 : domaine UV-visible.....	21
Figure 18 : Schéma de principe de lecture d'un échantillon en spectroscopie UV-Visible.....	22
Figure 19 : Eléments constitutifs du spectrophotomètre	23
Figure 20 : Réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse	25
Figure 21 : Étapes du dosage des polyphénols totaux.....	33
Figure 22 : Étapes du dosage des flavonoïdes totaux.....	35
Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....	40

Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine	41
Figure 25 : Teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes en 100 g de MS	64
Figure 26 : Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de l'extrait de Laurier en g EAG/100g MS	65
Figure 27 : Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de l'extrait de Hibiscus en g EAG/100g MS	65
Figure 28 : Les IC50 des différents extraits	66

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Position systématique du Laurier Noble	3
Tableau 2 : Analyse chimique des calices séchés rouge et blanc de la plante Hibiscus sabdariffa	9
Tableau 3 : Les réactifs utilisés lors des expériences.....	30
Tableau 4 : Concentration des étalons de l'acide gallique	33
Tableau 5 : Concentration des étalons de la quercétine	35
Tableau 6 : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés pour la première matrice.....	37
Tableau 7 : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés pour la deuxième matrice	37
Tableau 8 : Matrice X correspondant au modèle du 1e degré (plan factoriel, de précision uniforme)	37
Tableau 9 : Matrice X correspondant au modèle du 2e degré (plan composite centré, iso variant par rotation, de précision uniforme)	38
Tableau 10 : Valeurs des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.....	41
Tableau 11 : Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	42
Tableau 12 : Analyse de la variance - Recherche de biais.....	43
Tableau 13 : Analyse de la variance – Signification globale de la régression	44
Tableau 14 : Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	45
Tableau 15 : Résultats de validité du modèle (recherche de biais)	46
Tableau 16 : Signification globale de la régression	47
Tableau 17 : Valeurs des TPT, TFT estimées, et ER(%) correspondants	47
Tableau 18 : Valeurs des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT.....	48
Tableau 19 : Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	49
Tableau 20 : Analyse de la variance - Recherche de biais.....	50
Tableau 21 : Analyse de la variance – Signification globale de la régression	51
Tableau 22 : Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	51
Tableau 23 : Résultats de la validité du modèle (recherche de biais)	53
Tableau 24 : Signification global de la régression	53
Tableau 25 : Valeurs des TPT, TFT estimées, et ER(%) correspondants	54
Tableau 26 : Valeurs des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT.....	55

Tableau 27 : Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	56
Tableau 28 : Analyse de la variance - Recherche de biais	58
Tableau 29 : Analyse de la variance – Signification globale de la régression	59
Tableau 30 : Valeurs et signification des coefficients du modèle.....	59
Tableau 31 : Valeurs des TPT, TFT estimées, et ER(%) correspondants	61
Tableau 32 : Valeurs des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT.....	61
Tableau 33 : Valeurs optimales des facteurs d'extraction pour le laurier	61
Tableau 34 : Valeurs optimales des facteurs d'extraction pour l'hibiscus (première matrice).....	62
Tableau 35 : Valeurs optimales des facteurs d'extraction pour l'hibiscus (deuxième matrice).....	62

Introduction

Introduction

Les extraits naturels des plantes contiennent une variété de composés bénéfiques, tels que les polyphénols auxquels sont attribuées diverses activités. Ces composés sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. On les trouve dans les plantes dans tous leurs organes (feuilles, fleurs, racines, etc.). [1]

Les antioxydants sont tout simplement de bonnes molécules qui transforment ces radicaux libres en produits inoffensifs et réduisent ainsi leurs effets néfastes sur notre santé. Les antioxydants sont essentiels dans notre alimentation chaque jour pour réduire le stress oxydatif dans notre organisme. [2]

La qualité alimentaire ou thérapeutique d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé. 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, la taille des particules, le degré d'agitation et la nature du solvant.

L'objectif de notre travail est d'étudier l'influence de trois facteurs (le temps d'infusion, la température d'infusion et la masse de la matière sèche par unité de volume d'eau) sur l'extraction par infusion des composés phénoliques des feuilles de laurier et des fleurs de hibiscus sabdariffa en utilisant la méthode des plans d'expériences. Pour cela, nous avons déterminé les teneurs des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux des extraits d'infusion.

Notre travail est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre sera consacré à une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur les plantes étudiées, les composés phénoliques, la méthode d'extraction solide-liquide (infusion), les techniques d'analyses par spectrophotométrie UV visible et la méthode des plans d'expériences.
- Le deuxième chapitre est consacré aux matériels et procédures expérimentales.
- Le troisième chapitre présente l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus au cours de l'étude faite au niveau du laboratoire LPMTSR et leurs interprétations.

Enfin, le document se termine par une conclusion générale.

**Chapitre 01:
Synthase
bibliographies**

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

1.1. Généralités sur le laurier

1.1.1. Définition du Laurier

Le laurier est une herbe aromatique et médicinale de la famille des Lauracées. Elle est originaire du bassin méditerranéen, et surnommé "laurier vrai", "laurier d'Apollon", ou encore "*Laurus nobilis*". [3]

1.1.2. Historique et origine du Laurier

La plante aux feuilles persistantes apparaît dans la mythologie grecque. Dans l'un des mythes, la nymphe Daphné fut transformée en laurier pour échapper à Apollon qui en est amoureux. Ce dernier consacra cet arbuste aux triomphes, aux chants et aux poèmes. Les Grecs et les Romains, quant à eux, couronnaient de laurier les poètes et les grands vainqueurs comme César. Ce condiment les protégeait, symbolisant leurs victoires militaires. À l'époque du Moyen âge, ce sont les savants qui étaient respectivement coiffés de laurier. De nos jours, cet aromate symbolise toujours la paix.

Principalement cultivé en véranda ou à l'intérieur (à l'abri du froid et de l'humidité), on compte près de 1100 variétés différentes dont 45 genres. Cette famille de lauracées qui est principalement tropical, se trouve dans la région méditerranéenne en particulier en Turquie, Grèce, Espagne, Italie, France, Libye, Maroc et Algérie. Elle est répartie dans toutes les régions humides. Elle se développe sur les bords des cours d'eau. Elle s'accommode sur tous les types de sols. En Algérie, on trouve le laurier noble dans les forêts et ravins humides. Commun dans le tell Algérois et Constantinois. [4]

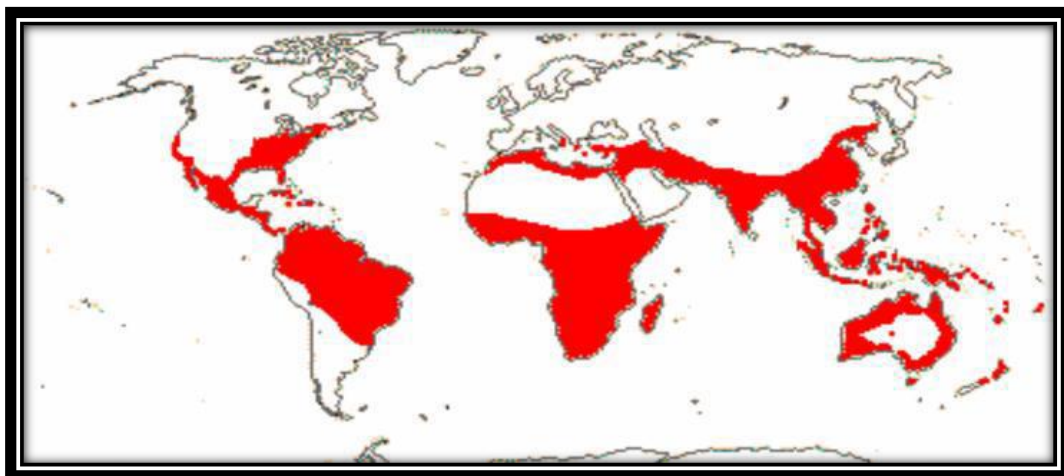


Figure 1 : Distribution des Lauracées à travers le monde [5]

1.1.3. Caractéristiques morphologiques du laurier

A. Système racinaire

Comme la plupart des arbres et des arbustes, le laurier sauce présente une racine pivotante au début de sa vie. Mais bien vite, il développe des racines secondaires horizontales. Sur les plus proches de la surface, des rejets apparaissent. De ce fait, il est capable de soulever des dallages ou faire éclater du béton si celui-ci présente des fissures. [6]

B. Système aérien

- **Le tronc**

Arbrisseau ou petit arbre aromatique glabre de 1m à 8m (atteignant parfois 20m en culture), dressé et densément ramifié dès la base. Tête conique s'arrondissant avec l'âge, supporte très bien la taille, dioïque. Ecorce gris foncé à très foncé, mate plus ou moins lisse chez les jeunes sujets et s'écaillant chez les très vieux arbres. Branches remontant en oblique, jeunes pousses fines. [7]

- **Le rameau**

Les tiges des rameaux sont vertes et dirigées vers le haut. [8]

- **Les feuilles**

Le feuillage du laurier est persistant avec une couleur vert foncé sur le dessus et plus claire en-dessous. La forme des feuilles est allongée voire lancéolée avec des extrémités pointues et un pétiole court. Le limbe possède un bord ondulé légèrement épaissi et recourbé vers l'intérieur. Les feuilles mesurent environ 3 à 5 cm de large sur 10 cm de long. [8]

- **L'inflorescence et les fleurs**

Le laurier noble est une plante dioïque c'est-à-dire que les fleurs mâles et femelles sont sur des pieds distincts. La floraison a lieu de mars à mai. L'inflorescence est composée de petites ombelles de quatre ou cinq fleurs axillaires. Elle est de couleur blanc-crème à blanc verdâtre. [7]

- **Le fruit**

Ce sont des baies ovales d'environ 2 cm de long, vertes puis noir violacé en automne. Elles contiennent une seule graine formée de deux cotylédons riches en lipides et parfumés. Très souvent, les baies restent présentes tout l'hiver sur l'arbre, voire même jusqu'au printemps suivant. L'huile peut en être extraite pour fabriquer des savons. [8]



Figure 2 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* [4]

C. Position du laurier noble

Le tableau ci-dessous représente la classification botanique du laurier noble :

Tableau 01 : Position systématique du Laurier Noble [9]

Règne	Végétale
Sous règne	Plante vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Décotylédones
Sous classe	Magnoliidae
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	Laurus
Espèce	Nobolis

1.1.4. Utilisation

Les feuilles séchées du laurier sont une base d'assaisonnement parfaite pour des plats savoureux spécialement autour de la Méditerranée. L'aromate met particulièrement en valeur les plats à caractère aigre, tels que les tomates vertes, les cornichons. En tant qu'ingrédient d'un mélange d'aromates destiné aux marinades en bocaux, le laurier est indispensable, tout comme dans le fameux bouquet garni. Associée au thym et au persil en petit bouquet, la feuille de laurier agrmente les bouillons légers et les soupes épaisses. Pourtant nombreux sont ceux qui ignorent son origine et ses multiples applications médicinales. [9]

A. Utilisation interne

Le laurier favorise la digestion et réduit les flatulences ; calme les infections urinaires et dentaires ; offre des propriétés antiseptiques et bactéricides ; apaise les douleurs liées aux angines ; participe au traitement des états grippaux (toux, bronchite, sinus obstrués, etc. [9])

B. Utilisation externe

Le laurier calme les rhumatismes et les douleurs articulaires. Employé en décoction et en lotion, il intervient dans les soins des cheveux et de la peau. [9]

1.1.5. Composition chimique

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis* ainsi que les fleurs et plusieurs ont prouvé la richesse de ses dernières en substances actives. Par hydro distillation les feuilles fournissent environ 10-30 ml/Kg (1-3%) d'huile essentielle [8]. Quant au fruit, ce dernier est riche en huile grasse. [10]

1.1.6. Types de laurier

Il existe de nombreuses variétés de lauriers. Bien que de nombreux arbustes soient appelés lauriers, ils ne se ressemblent pas toujours car la plupart ne sont ni du même genre, ni de la même famille. On en distingue cinq sortes dont le laurier-sauce :

- Le laurier palme ou cerise
- Le laurier du Portugal
- Le laurier tin
- Le laurier rose

Il convient de ne pas confondre le laurier-sauce avec les autres variétés de laurier, notamment le laurier rose et le laurier cerise qui sont des arbustes ornementaux et sont toxique. [4]

1.1.7. Importance et commercialisation du laurier :

La demande d'herbes séchées sélectionnées, y compris les feuilles de laurier, sur les principaux marchés européens devrait croître beaucoup plus rapidement dans les secteurs de l'alimentation industrielle et de la restauration collective que le taux de croissance relativement stable dans le secteur de la vente au détail. Cependant, la plupart des pays utilisateurs sont soucieux de la qualité et les nouveaux exportateurs devraient être en mesure de fournir des herbes séchées de haute qualité, en particulier en terme de propreté et d'absence de résidus de pesticides, s'ils veulent pénétrer avec succès le marché, qui n'est actuellement pas à court de provisions. Le commerce mondial des feuilles de laurier séchées dépasse 2000 tonnes par an. La Turquie est le principal producteur et exportateur (environ les deux tiers du commerce mondial). L'importation de feuilles de laurier séchées en Europe

occidentale est estimée à 800 tonnes par an. De petites quantités sont également importées du Maroc, d'Albanie et d'Israël. [11]

1.2. Généralités sur l'hibiscus sabdariffa :

1.2.1. Définition et origine

Hibiscus sabdariffa, autrement appelé Oseille de guinée, est une grande plante tropicale, à fleurs annuelles ou vivaces qui comporte plusieurs centaines d'espèces. L'hibiscus est d'origine d'Afrique, il fait partie de la famille des Malvacée, ce sont des plantes connues depuis la haute antiquité : elles étaient cultivées en Egypte et en Asie de sud-est pour leur caractère ornemental, mais aussi pour leurs fruits comestibles. Plusieurs espèces ont également des propriétés médicinales. Importées en Europe par les Maures d'Espagne, certaines espèces furent ensuite introduites en Amérique par les colons. [12]

Il existe à ce jour plus de 30 000 espèces différentes d'hibiscus aussi appréciées les unes que les autres pour leurs diverses propriétés. [12]



Figure 03 : L'hibiscus Sabdiriffa. [12]

1.2.2. Appellation

Hibiscus Sabdariffa, plus connue sous le nom de thé rose, oseille de Guinée, thé de l'empire, Bissap ou « karkadé » en arabe, est une plante de la famille des malvacées.

Karkadé est une boisson très populaire en Afrique, notamment en Égypte. Cette boisson rafraîchissante, qui se consomme souvent sucrée accompagnée de feuilles de menthe, de la cannelle ou d'une tranche de citron, est idéale pour lutter contre la chaleur. Ce jus a l'avantage d'être doté d'un goût agréable et de ne pas contenir de la caféine. Ce qui n'empêche pas sa consommation le soir. Il se consomme aussi sous forme de tisane chaude ou froide. Pour la

préparer, il suffit de laisser infuser 2 cuillères à soupe de cette plante dans 500 ml d'eau pendant 5 à 10 minutes. [13]



Figure 4 : Thé d'*Hibiscus sabdariffa* et sachets de thé d'Hibiscus [13]

1.2.3. Botanique [12]

La proposition systématique actuelle de la roselle est la suivante :

Règne: Plantae

Division: Magnoliophyta

Classe: Magnoliopsida

Ordre: Malvales

Famille: Malvaceae

Genre: Hibiscus.

1.2.4. Description et propriétés

Hibiscus sabdariffa est une plante qui se développe à partir d'un système racinaire profond pouvant atteindre une hauteur de plus de 3,5 mètres, vigoureuse, peu ramifiée et très fibreuse avec des tiges cylindriques lisses rouges ouvertes et un calice rouge ou jaune pâle comestible et possède une racine pivotante à pénétration profonde, plantule à germination épigée ; cotylédons arrondis, atteignant 2,5 cm × 3 cm foliacés. [14]

a. Tiges

Présentent un aspect lisse ou presque lisse glabre à légèrement pubescente et parfois garnie de

quelques aiguillons, elles ont une forme cylindrique et une couleur vert foncé à rouge [14]

b. Feuilles

Les feuilles supérieures d'*Hibiscus sabdariffa* sont simples et les feuilles inférieures sont profondément 3 à 5 ou même à 7 lobes et les marges sont étouffées, Généralement les feuilles sont disposées de manière alterne sur la tige avec une longueur de 7,5 à 12,5 cm de couleur verte rouge, rouge violet, avec des nervures rougeâtres. [14]

c. Calices

Le calice est ce qui reste de la fleur lorsque les pétales sont tombés, il est composé de 5 grands sépales avec un collier qui s'appelle epicalyx de 8-12 bractées minces et pointues autour de la base, il commence à s'élargir à la fin de la journée, Il est de 3,2 à 5,7 cm de long et entour complètement le fruit, il est rouge ou blanc. [14]



Figure 5 : Tige, feuille et calice de la plante *Hibiscus sabdariffa* [15]

d. Fleurs

La fleur prend naissance sur les rameaux à l'aisselle des feuilles, peuvent atteindre 12,5 cm de large, avec une couleur jaune et un œil rose ou marron et deviennent rose à la fin de la journée, elle s'ouvre tard dans la matinée et se referme tôt l'après-midi. [14]



Figure 6 : Fleur d'*Hibiscus sabdariffa* [15]

e. Graines

Couvertes de minuscules poils robustes et étoilés, sont des graines réniformes, avec 3 à 5 mm de long et peuvent atteindre le 7 mm, généralement de couleur brun clair ou foncé [14]



Figure 7 : Les graines d'*Hibiscus sabdariffa* obtenue manuellement à partir de la capsule in Terengganu. Malaisie [15]

f. Fruit

C'est une capsule ovoïde pubescente atteignant 2,5 cm de long, elles sont enfermées dans le calice, contenant de nombreuses graines peut contenir 25 à 35 graines. [15]



Figure 8 : Partie calice et fruit. [15]

Le tableau ci-dessous représente la composition des calices séchés.

Tableau 2 : Analyse chimique des calices séchés rouge et blanc de la plante Hibiscus sabdariffa. [13]

Composant	Calice rouge (%)	Calice blanc (%)
Humidité	11.00	9.30
Protéine brute	7.88	7.53
Fibre brute	13.20	12.00
Matière grasse brute	0.16	0.12
Carbohydrates totaux	57.16	61.55
Acide ascorbique (mg / 100 g)	11.00	15.50
Total des solides solubles (%)	5.00	5.50
Acidité titrable (mg / 100g)	9.00	11.00
Calcium (mg / 100 g)	60.00	50.00
Fer (mg / 100 g)	25.00	20.00

1.2.5. Utilisation de l'hibiscus et ses bienfaits

Toutes les parties d'*Hibiscus Sabdariffa* (calices, feuilles et graines) sont utilisées soit dans l'alimentation humaine soit dans la médecine traditionnelle. [16]

a. Alimentation humaine

Il produit des pousses et des jeunes feuilles qui se mangent crues ou cuites comme des légumes. Ses fleurs rouges, séchées puis infusées, sont utilisées pour des sauces et confitures ou pour la préparation du bissap (thé rose), infusion et sirop produisant une boisson rouge, bue fraîche et très sucrée (parfois préparée avec de la menthe). [16]



Figure 9 : L'infusion d'*H.sabdariffa* " le Bissap" [16]

La tisane à l'hibiscus est connue pour ses vertus minceur, drainantes et digestives. Les fleurs infusées, de couleur rouge foncé, renferment une quantité importante de polyphénols (flavonoïdes et les anthocyanes), de la vitamine C et des acides de fruits. Les extraits de calices sous forme de concentré ou de poudre séchée sont utilisés comme colorant naturel dans les industries alimentaires. [17]

b. Médecine traditionnelle

- Les fleurs (calices)

Étaient autrefois utilisées en médecine traditionnelle pour calmer la toux et guérir les angines, remède aux douleurs menstruelles. [18]

- **La tige**

Cylindrique peu ramifiée, fibreuse, parfois garnie de quelques aiguillons, verte ou rougeâtre. Elle peut être utilisée pour la fabrication de papier. [18]

- **La racine**

Utilisée pour calmer la toux et dégager les voies respiratoires. [18]

- **Le fruit**

Est une capsule ovoïde atteignant 2,5 cm de long, enfermée dans le calice, contenant de nombreuses graines. Il entre, comme légume, dans la composition de nombreux plats africains, asiatiques, d'Amérique centrale et d'Amérique du sud. [18]

- **Les graines**

De couleur brune foncée. Elles servent ainsi à la production d'huile, constituée essentiellement d'acides gras insaturés et riche en tocophérols. L'huile extraite des graines de roselle sert en cuisine, par exemple au Tchad, en Tanzanie et en Chine. Mais cette huile a la réputation de contenir des substances toxiques, ce qui la rend plus indiquée pour la fabrication de savon et de produits cosmétiques. Dans certains endroits, on consomme les graines grillées en amuse-gueule ou on en fait de la farine. Sur le Plateau nigérian, on fait fermenter les graines pour confectionner des galettes qu'on consomme sous le nom de "sorrel meat" ou "viande d'oseille". L'huile entre également dans la fabrication de peintures. Elle peut entrer également dans la fabrication de savon et de produits cosmétiques. [18]

- **Les pétales**

Réduisent les maladies cardio-vasculaires. L'hibiscus est recommandé également pour lutter contre l'hypertension. Cette plante médicinale est très bénéfique dans le traitement pour diminuer le mauvais cholestérol, elle apaise les inflammations des voies respiratoires. De plus par sa richesse en vitamine C, il remonte les organismes fatigués ; Il agit sur les spasmes gastro-intestinaux et les douleurs d'estomac et cancer compris, bénéfique pour le foie il serait d'une aide précieuse dans les problèmes hépatiques, il agit dans les cas de diabète, facilite la digestion et renforce l'élimination des toxines des reins. [18]

c. Effets secondaires

D'après des scientifiques, une consommation très élevée d'extrait d'hibiscus peut endommager le foie et provoquer des complications pour la femme enceinte comme des naissances

prématurées. Il est aussi déconseillé de le consommer au moment de l'allaitement. Mais une consommation modérée de tisane n'aurait aucun effet néfaste sur la santé. Veuillez néanmoins à mettre votre médecin au courant si vous en buvez, car cette plante peut interagir avec certains médicaments. Cependant, en dépit de l'utilisation populaire de cette plante dans le domaine de la pharmacologie, peu ou pas d'informations ont été fournies jusqu'à présent sur sa toxicité, des travaux complémentaires seraient donc nécessaires dans ce domaine. [17]

1.3. Les composés phénoliques

1.3.1. Définition

Les polyphénols sont une classe de substances largement répandue, plus de 8000 structures phénoliques sont présentes dans tous les organes de la plante. Ils sont issus bio génétiquement de deux principales voies de synthèse : Acide shikimique et acétate [19]. L'élément structurel de base qui les caractérise est la présence d'anneaux Aromatique (acide benzoïque) avec au moins un groupement hydroxyle [20], Libérer ou exercer d'autres fonctions chimiques (éther, méthyle, ester, sucre, etc.). [21]

Les structures de ces composés varient de simples molécules (acides résines phénoliques simples) à des molécules fortement polymérisées (tanins condensés) [20]. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs, des légumes et de certains fruits (raisins, agrumes, etc.) dont certains sont responsables d'amertume et d'astringence. [22]

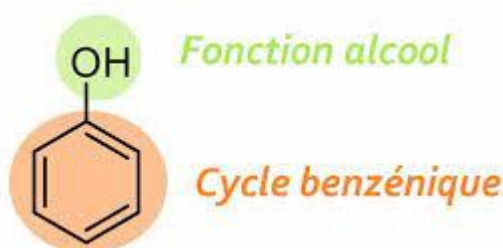


Figure 10 : Structure du noyau phénol [22]

1.3.2. Rôle et intérêt des composés phénoliques

On ne connaît pas encore tous les bienfaits des polyphénols tant la famille est vaste et complexe. Cependant, la plupart d'entre eux sont connus pour être de puissants antioxydants, qui aident à combattre les effets néfastes des radicaux libres. On va présenter quelques bienfaits connus ci-dessus :

Chez les végétaux

Les composés phénoliques peuvent intervenir être impliqués dans certains aspects de la physiologie de plantes la plante (lignification, régulation de la croissance, interactions interaction moléculaires avec certains certaines microorganismes molécules micro-organismes symbiotiques ou parasites) dans les interactions des plantes avec leur eux environnement biologique et physique (relations avec les bactéries, les champignons, les insectes, résistance résistant aux UV); soit directement dans au la champ nature ou soit après lors stockage Récolte de la certaines conservation plantes après récolte de certains végétaux ; dans les des critères de qualité (couleur, astringence, amertume, qualités qualité nutritionnelles nutritionnelle) qui guident orientent les choix gens de l'homme dans sa le consommation choix des organes aliments Organes végétaux (fruits, légumes tubercules) et des leurs produits dérivés qui en dérivent par la transformation; dans en les train variations de changer certaines caractéristiques des d'une végétaux plante lors Transformation des technique traitements technologiques (préparation des de jus de fruits, des boissons fermentées)pendant lesquels Un apparaissent brunissement fréquemment enzymatique des se brunissements produit enzymatiques souvent, qui modifiant modifie la qualité du produit fini. [22]

Chez les humains

Le rôle des composés phénoliques se manifeste largement dans la protection des certaines maladies, en raison de leur interaction possible avec de nombreuses enzymes et à leurs propriétés antioxydantes [22]. Plus précisément, diverses propriétés thérapeutiques sont attribuées aux flavonoïdes : tension vasculaire, anti-tumorale, anti-radicalaire, anti-inflammatoire, Analgésique, anti-allergique, antispasmodique, antibactérien, hépatoprotecteur, œstrogène et/ou des anti-oestrogènes. Ils sont connus pour réguler plusieurs enzymes ou récepteurs cellulaires. Les flavonoïdes favorisent la vasodilatation et Prévenir l'agrégation plaquettaire. Par conséquent, ils réduisent la coagulation du sang et le rendent plus fluide Ils limitent l'oxydation des lipides et aident à lutter contre les plaques d'athérosclérose Ce sont aussi des anxiolytiques et des médicaments protecteurs. Nos artères combattent l'athérosclérose et réduisent la thrombose (thrombose artérielle). [23]

Dans la régénération des sols pollués

Cela consiste en la biotransformation des matières organiques dans le sol de type Siringil (un composé phénolique) jouent un rôle important, tout comme de nombreux composés. Autres composés phénoliques. Ce changement in vivo n'est que le début d'un long processus Dans le cadre de la conversion du sol, qui est la régulation des organismes du sol, Disponibilité des nutriments. Il affecte directement la résistance à l'érosion, En même temps que stimulant, il protège les différentes étapes de la vie des animaux, des bactéries et des champignons Les principales causes de la formation du sol [24]. C'est ainsi que le sol demeure stable et fertile, pas seulement ca puisque les polyphénols remplissent aussi des fonctions gustatives et visuelles. [25]

1.3.3. Classification

Selon Harborne (1989), les polyphénols peuvent être classés en au moins 10 classes différentes en fonction de leurs structures chimiques de base. Ils peuvent aller de simples molécules telles que les acides phénoliques à des composés hautement polymères tels que les tanins [26]. Les composés phénoliques (acides phénoliques, flavonoïdes simples et proanthocyanidines) constituent le groupe le plus important de composés phytochimiques. [27]

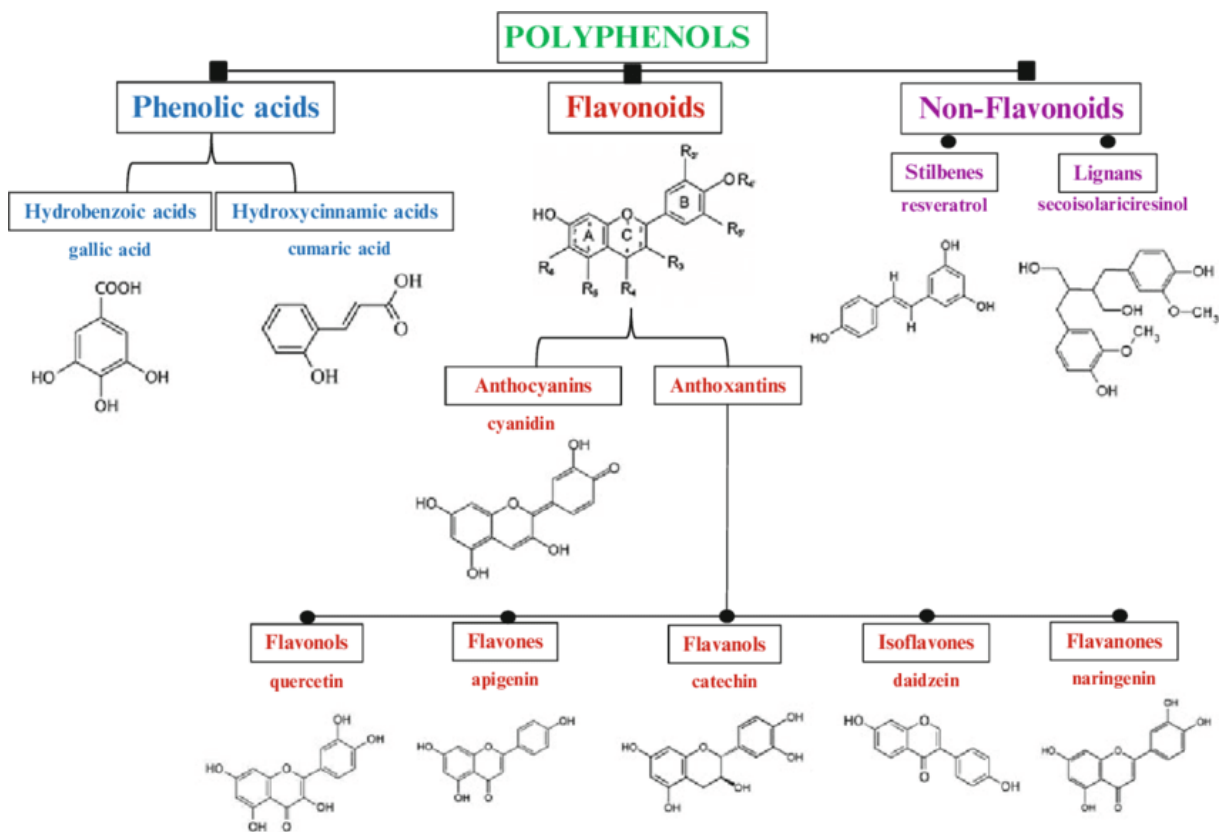


Figure 11 : Classification des polyphénols [28]

1.3.3.1. Les acides phénoliques

Ces acides sont contenus dans de nombreuses plantes agricoles et médicinales. Des exemples d'acides phénoliques sont : l'acide chlorogénique, l'acide caféique, l'acide protocatéchuïque, l'acide vanillique, l'acide férulique, l'acide sinapique et l'acide gallique. Ils sont considérés comme des composés phytochimiques aux propriétés prébiotiques, antioxydantes, chélatrices et anti-inflammatoires. Ils ont une faible toxicité et sont considérés comme non toxiques. Pharmacologiquement, le mieux caractérisé est l'acide caféique [29]. Cet acide et l'acide férulique empêchent la formation du cancer du poumon chez la souris, tandis que l'acide gallique inhibe la formation du cancer de l'œsophage chez le rat. [30]

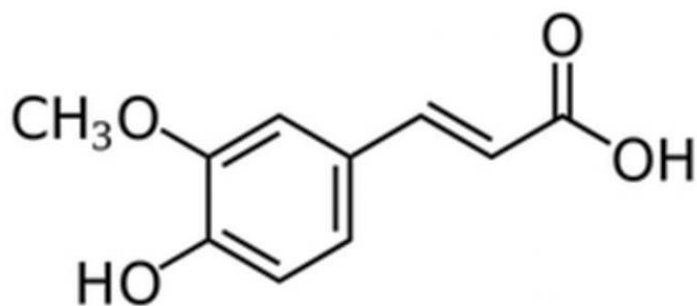


Figure 12 : Squelette des acides phénoliques [30].

1.3.3.2. Les tanins

Les tanins sont des polyphénols polaires d'origine végétale présents dans presque toutes les parties de la plante : écorce, bois, feuilles, fruits et racines, et leur poids moléculaire varie de 500 à 3000 [31]. Il est difficile de les séparer dans les extraits végétaux car de nombreux isomères aux bases moléculaires très proches coexistent [32]. Outre les propriétés classiques des phénols, les tanins précipitent les alcaloïdes, les gélatines et les protéines.

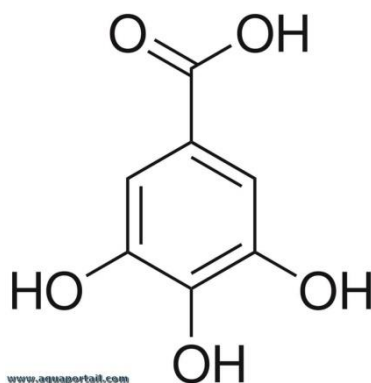


Figure 13 : Squelette des Tanins [32]

1.3.3.3. Les flavonoïdes

Les flavonoïdes représentent une classe de métabolites secondaires largement présents dans le règne végétal. Les flavonoïdes sont des pigments végétaux hydrosolubles qui provoquent une variété de couleurs dans les fleurs, les fruits et parfois les feuilles. Les flavonoïdes sont une classe majeure de polyphénols, avec plus de 4000 composés différents identifiés dans le règne végétal. En 1936, le Hongrois Albert Szent-Györgyi, qui découvrit les flavonoïdes dans les écorces de citron, reçut le prix Nobel de médecine en 1937 pour l'isolement de la vitamine C. Toutes ces molécules partagent un squelette chimique commun (diphényle propane constitué de deux cycles aromatiques liés par trois carbones). [28]

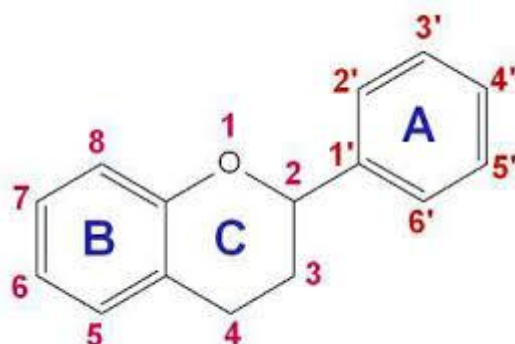


Figure 14 : Squelette de base des flavonoïdes [28]

Les flavonoïdes atomiques sont des composés C₆ C₃ C₆ contenant des milliers de molécules et peuvent être regroupés en plus de 10 catégories, ce qui en fait une nomenclature complexe. Ils sont dérivés de coumaroyl-CoA et de trois molécules de malonyl-CoA formant une hydrochalcone contenant deux cycles phényle. [28]

A. Classification des flavonoïdes

Tous les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et de ce fait possèdent le même élément structural de base. Ils peuvent être regroupés en différentes classes selon le degré d'oxydation du noyau pyranique central, le noyau B relié à l'hétérocycle C dans les positions 2, 3

- ❖ Dans la position 2 : le flavonoïde est appelé Flavane.
- ❖ Si la position 4 de la flavane porte un groupement carbonyle la flavane est appelé Flavanone.
- ❖ Si la liaison C₂-C₃ dans le squelette de la flavanone est insaturée le composé est nommé Flavone.
- ❖ Si le squelette est substitué en position 3 par un groupement hydroxyle il est désigné par le nom de Flavonol.

Dans la position 3 : le flavonoïde est désigné par le terme Isoflavane. [33]

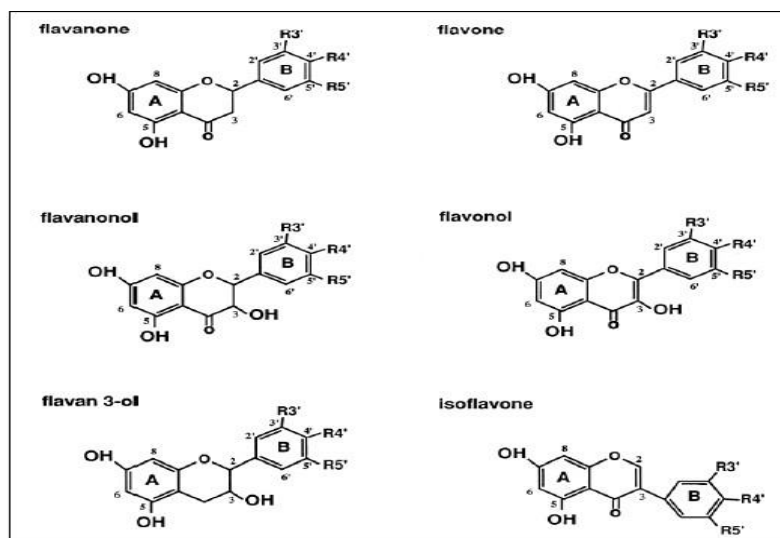


Figure 15 : Structure de quelques classes des flavonoïdes [34]

B. Propriétés des flavonoïdes [35]

Les flavonoïdes sont essentiellement connus pour leur action antioxydante. Ils participent à combattre les radicaux libres, ces molécules issues de l'oxygène et de l'azote, mises en cause dans de nombreux processus dégénératifs, accélérant le vieillissement des tissus et cellules. Le stress oxydatif occasionné par ces radicaux libres semble fragiliser la bonne santé de l'organisme. Les défenses naturelles servent à limiter leur effet, mais, parfois, l'organisme ne peut pas se défendre seul, notamment chez les personnes âgées, et nécessite de trouver de nouvelles armes à travers l'alimentation.

Il semble aujourd'hui indispensable pour le bien-être de l'organisme d'avoir une alimentation variée et de manger au moins cinq fruits et légumes par jour. Les sources d'antioxydants naturels se trouvent principalement dans les fruits et légumes colorés, et dans certaines céréales. Selon certaines études, leur action dans la lutte contre les radicaux libres serait même plus efficace que celle vitamine C et E. En tout cas, ils améliorent l'action de ces vitamines sur l'organisme en augmentant leur absorption et en retardant leur élimination.

Les flavonoïdes participent à renforcer l'élasticité, l'étanchéité des vaisseaux sanguins et donc, leur résistance. Ils contribuent également à améliorer l'irrigation et la dilatation des artères et régularisent ainsi artérielle. Ils participeraient également à lutter contre l'altération des fibres de collagène, indispensable au maintien de la santé cellulaire.

1.3.4. Stress oxydatif

Dans l'ensemble de nos tissus sains, les défenses anti-oxydantes sont capables de détruire les radicaux produits en excès. On dit que la balance oxydants /antioxydants est en équilibre. Cependant dans certains cas, en raison d'une surproduction radicalaire ou d'une diminution

des capacités anti-oxydantes. Un déséquilibre entre la génération d'espèces oxygénées activées (EOA) et les défenses antioxydants de l'organisme appelé stress oxydatif [36]. Les espèces activées de l'oxygène par leur structure électronique instable peuvent attaquer les composants cellulaires.

1.3.5. Radicaux libres

Un radical libre est une espèce chimique, atome ou molécule, contenant un électron non apparié. Extrêmement instable, ce composé peut réagir avec les molécules les plus stables pour appairer son électron. L'appellation ROS inclut les radicaux libres de l'oxygène: Anion superoxyde ($O_2^{\bullet-}$), radical hydroxyle (OH^{\bullet}) mais aussi certains dérivés oxygénés non radicalaires dont la toxicité est importante tels que le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2). A côté des ROS, il existe des ERN (espèces réactives nitrogénées) dont le représentant majeur le NO^{\bullet} . C'est un agent vasodilatateur. Il est synthétisé par les NO synthases (NOS). Le NO^{\bullet} est un radical peu réactif mais peut se lier aux radicaux libres oxygénés pour former des molécules plus toxiques comme les peroxydinitrites. [37]

1.4. Méthodes d'extraction

1.4.1. Définition

L'extraction consiste à transférer un composé d'une phase à une autre:

- D'une phase liquide à une autre phase liquide.
- D'une phase solide à une phase liquide.

C'est une opération qui consiste à séparer certains composés d'un organisme (animal ou végétal) selon diverses techniques. [38]

1.4.2. Intérêt de l'extraction

Le but de l'extraction est d'isoler une ou plusieurs molécules à partir d'un organisme. Ainsi, la découverte de nouveaux médicaments peut passer par l'étude de ces substances naturelles et si une molécule se trouve être performante dans un domaine précis, elle pourra faire l'objet d'une commercialisation sous forme de médicament. [38]

1.4.3. Type d'extraction [38]

L'extraction est utilisée pour extraire sélectivement un ou plusieurs composés d'un mélange initial, sur la base de propriétés chimiques ou physiques. L'homme utilise des colorants, des parfums, des arômes, et des extraits de produits naturels depuis la haute Antiquité, par différentes techniques:

- **La filtration**

Depuis les temps préhistoriques, l'homme utilise un lit de sable ou de mousse pour rendre une eau boueuse (pleine de boue) limpide (claire et transparente).

- **Le pressage**

Consiste à exercer une pression sur une orange pour obtenir le jus, ou à écraser des fleurs pour extraire les arômes.

- **L'enfleurage**

Est une forme d'extraction utilisée en parfumerie. Il repose sur le pouvoir d'absorption d'une huile essentielle par les corps gras. Par exemple, les fleurs fragiles sont posées sur des cadres enduits de graisse animale très pure et inodore qui absorbe le parfum des fleurs au contact; en fin de séchage, les graisses sont imprégnées de substances odorantes.

- **La décoction**

Cette méthode est très ancienne. Elle consiste à chauffer la racine ou l'écorce d'une plante avec de l'eau; jusqu'à ce que cette dernière soit bouillante et les constituants se dissolvent.

- **L'infusion**

Elle consiste à verser de l'eau bouillante sur des plantes (les feuilles ou les fleurs) finement broyées puis les laisser tremper pour dissoudre leurs principes actifs.

- **La macération**

Consiste à laisser séjourner à froid un solide dans un liquide pour en extraire les constituants solubles dans ce liquide.

- **L'extraction par solvant**

C'est un procédé qui permet d'extraire des composés qui ne peuvent pas l'être avec de l'eau.

- **L'entraînement à la vapeur ou l'hydrodistillation**

L'entraînement à la vapeur d'eau et l'hydrodistillation sont des procédés d'extraction ou de séparation de certaines substances organique parmi les plus anciens, Cette opération s'accomplit dans un alambic. La méthode est basée sur l'existence d'un hétéroazhotrope de température d'ébullition inférieure aux points d'ébullition des deux composés purs pris séparément.

1.5. Spectrophotométrie

1.5.1. Définition

La spectrophotométrie est une méthode d'analyse qui permet de déterminer l'absorbance d'une substance chimique en solution, autrement dit, sa capacité à absorber la lumière qui la traverse. Cette absorbance est liée à la nature et à la concentration de cette substance ainsi qu'à la longueur d'onde à laquelle on l'étudie (domaine de l'ultra-violet-visible). [39]



Figure 16 : Appareil UV-visible

Le domaine UV-visible s'étend environ de 10 à 800 nm.

- Visible : 400 nm -800 nm.
- Proche-UV : 200 nm -400 nm.
- UV-lointain : 10 nm- 200 nm. [40]

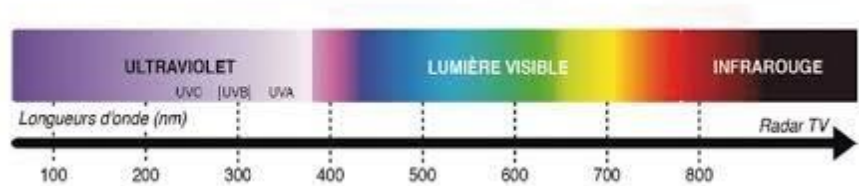


Figure 17 : domaine UV-visible [39]

1.5.2. Principe [39]

Dans la pratique, l'appareil réalise une mesure de l'intensité de la lumière après son passage au travers d'une cuve contenant la solution à étudier. L'intensité de la lumière monochromatique

émise (I_0) est connue. À partir de la mesure de l'intensité de la lumière transmise (I), l'appareil donne l'absorbance (A) selon la formule suivante :

$$A = \log\left(\frac{I_0}{I}\right) \dots \dots \dots (1)$$

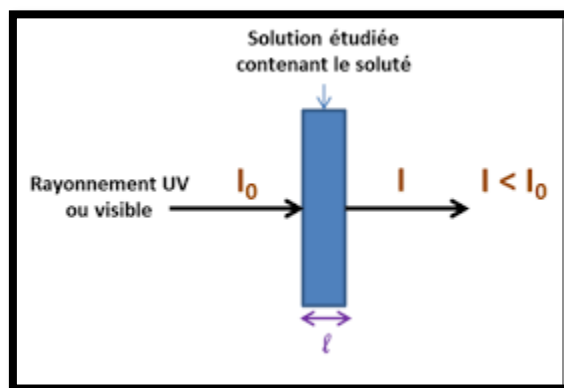


Figure 18 : Schéma de principe de lecture d'un échantillon en spectroscopie UV-Visible [40]

1.5.3. Appareillage [39]

La spectroscopie UV-Visible se réalise à l'aide d'un spectrophotomètre, ce dernier est constitué des éléments suivants :

- ❖ **Source de lumière monochromatique**
 - ✓ *Visible* : Lampe à incandescence à Tungstène et iode.
 - ✓ *UV* : Lampe à arc à Deutérium ou à Xénon, ou mercure

- ❖ **Monochromateur (sélection de la longueur d'onde)**
 - ✓ *Prisme*
 - ✓ *Réseau*

- ❖ **Cuve**
 - ✓ *Visible* : Verre
 - ✓ *UV* : Quartz

- ❖ **Détecteur**
 - Photomultiplicateur ou photopiles.

Ces éléments sont illustrés dans la figure 19 :

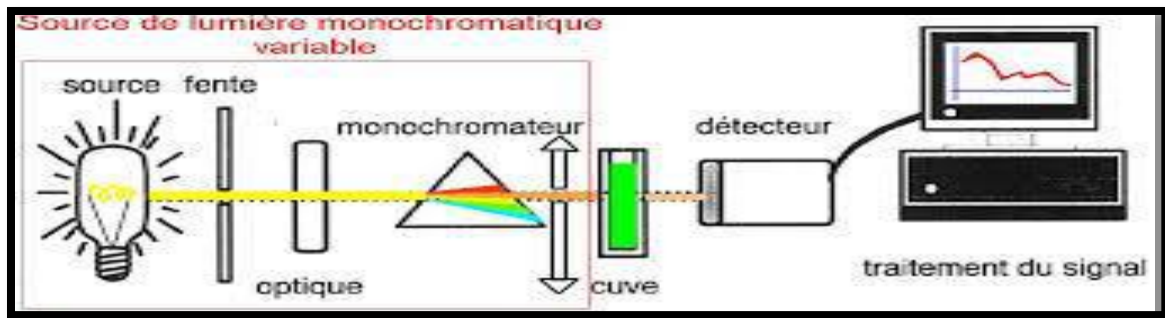


Figure 19 : Eléments constitutifs du spectrophotomètre [39]

1.5.4. Application de la spectrophotométrie

❖ Analyse qualitative

Les spectres UV fournissent généralement peu de renseignements sur la structure moléculaire des composés. [40]

❖ Analyse quantitative

L'analyse quantitative par la spectrométrie UV-visible est très employée (beaucoup plus que l'analyse qualitative) grâce à l'utilisation de la loi de Beer-Lambert.

Comme applications, on peut citer :

- ✓ Dosage du fer dans l'eau ou dans un médicament.
- ✓ Dosage des molécules actives dans une préparation pharmaceutique.
- ✓ Autres applications

On peut trouver également l'application de la spectrophotométrie dans le Contrôle Qualité ou le suivi de la cinétique d'une réaction, la détermination des constantes de dissociation des acides ou des constantes de complexations, la détermination des masses molaires.... [40]

1.6. Plans d'expériences

1.6.1. Introduction

Un PE (Plan d'expériences) peut être défini comme une organisation raisonnée d'essais en variant les paramètres les uns après les autres. Mais le problème important de la méthodologie réside alors dans la manière de choisir les points d'études de façon rationnelle afin de pouvoir interpréter et analyser les résultats facilement [41]. Actuellement, la connaissance de la méthode des PE contribue dans l'amélioration de la qualité des produits et des procédés, tout en réduisant les temps de développement. [42]

La méthode des plans d'expériences permet en effet d'obtenir un maximum d'information à un coût minimal, En résumé les avantages les plus reconnus sont : [43]

- Diminution du nombre des essais;
- Nombre élevé de facteurs étudiés;
- Détection des interactions entre facteurs;
- Meilleure précision sur les résultats;
- Modélisation;
- Optimisation.

1.6.2. Terminologie

Dans la science des plans d'expériences, plusieurs termes sont utilisés, dont nous essayerons de préciser la signification et donner la définition.

✓ *Facteur*

Les variables que l'on désire étudier sont appelées facteurs, qui sont supposées avoir une influence sur le système. Ils peuvent être quantitatifs ou qualitatifs, continues ou discrets, contrôlables ou non contrôlables. Généralement, on prend en compte les facteurs caractérisés par une seule variable naturelle qualitative ou quantitative que l'on contrôle. En général un facteur varie entre deux bornes : la borne inférieure et la borne supérieure. Dans le langage des plans, on dit que le facteur varie entre le niveau bas (borne inférieure que l'on note plus souvent par -1) et le niveau haut (borne supérieure que l'on note le plus souvent par +1). [44]

✓ *Effet d'un facteur*

L'effet d'un facteur A sur la réponse Y s'obtient lorsqu'on effectue une variation des valeurs de Y quand le facteur A passé du niveau -1 au niveau +1. [45]

✓ *Réponse*

Une réponse expérimentale est une manifestation mesurable que l'on observe lorsque l'on fait varier les paramètres étudiés durant l'expérience. Le choix de la réponse ne relève pas de la théorie des plans d'expériences. Ce n'est qu'après une analyse minutieuse des phénomènes, objectifs et des contraintes de l'étude que l'on peut définir la ou les bonnes réponses. [46]

✓ *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. 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. [47]

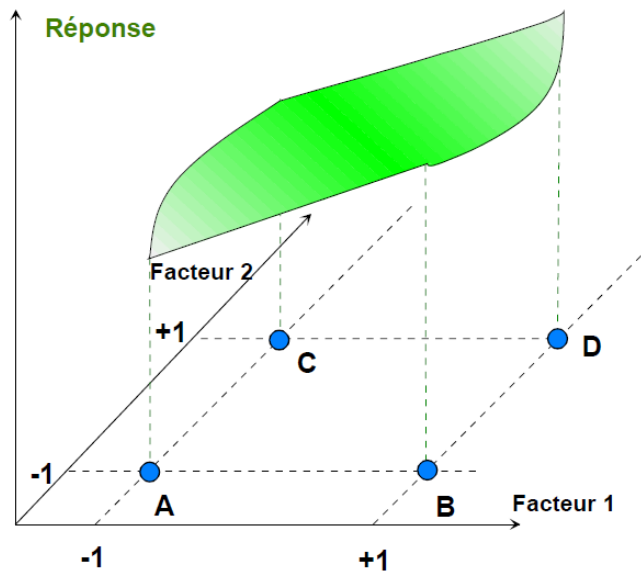


Figure 20 : Réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse [44]

1.6.3. Formules de codage

Pour établir un modèle exprimant la réponse en fonction des paramètres opératoires, il est nécessaire de faire la transformation de ces derniers en variables codées ou variables centrées réduites. La formule permettant le passage des variables réelles aux variables codées est :

$$X_j = \frac{Z_j - Z_j^0}{\Delta Z_j}; (j = 1, 2, \dots, k) \dots \dots \dots (2)$$

$$Z_j^0 = \frac{Z_{jmax} + Z_{jmin}}{2} \dots \dots \dots (3)$$

$$\Delta Z_j = \frac{Z_{jmax} - Z_{jmin}}{2} \dots \dots \dots (4)$$

Avec :

X_1, X_2, \dots, X_k : Variables centrées réduites ou variables codées

Z_1, Z_2, \dots, Z_k : Facteurs contrôlables (variables réelles)

$Z_1^0, Z_2^0, \dots, Z_k^0$: Variables réelles correspondantes au centre du plan ou parfois niveau fondamental ;

ΔZ_j : Unité ou intervalle de variation suivant l'axe des Z_j ;

Z_{min} : Valeur minimale de la variable réelle

Z_{max} : Valeur maximale de la variable réelle

K : le nombre de facteurs indépendants

1.6.4. Classification des plans d'expériences

On peut cependant diviser les plans d'expériences en trois grandes catégories :

✓ **Les plans du premier degré**

Ces plans dits factoriels ont une grande importance pratique, soit sous forme de plans complet, soit sous forme de plans fractionnaires.

✓ **Les plans du second degré**

Ils sont consacrés aux facteurs continus prenant plus de deux niveaux et dont l'interprétation est basée sur des modèles du second degré, il s'agit des plans composites, de Doehlert, Box-Behnken et autres. Ces plans se prêtent bien à une étude séquentielle des facteurs

✓ **Les plans des mélanges**

Qui sont adaptés aux facteurs avec contraintes tels que les concentrations des constituants d'un mélange. Ils ne s'appliquent qu'aux facteurs continus. [48]

Nous nous concentrerons ici à présenter les plans d'expériences factoriels qui sont les plus simples et les plus utilisés. [49]

• **Plans factoriels complets à deux niveaux 2^k**

Les plans factoriels à 2 niveaux sont les plus simples et plus rapides à mettre en œuvre, ils permettent de bien comprendre le principe de la méthode, et ont de nombreuses applications. Le nombre d'expériences à réaliser se calcule par : Le nombre d'expériences = 2^k . où k est le nombre de facteurs étudiés.

Ces plans sont basés sur le principe que dans bien des cas, on admet que la réponse est linéaire quand un facteur passe d'un niveau minimal à un niveau maximal. Il suffit alors d'étudier seulement ce qui se passe aux bords du domaine de variation du facteur. [50]

L'équation de régression du plan factoriel complet à deux niveaux pour trois facteurs sans interaction triple s'écrit :

$$Y=b_0+b_1x_1+b_2x_2+b_3x_3 + b_{12}x_1x_2+ b_{13}x_1x_3+ b_{23}x_2x_3.....(5)$$

✓ **Plan composite centré**

Le plan composite se prête bien au déroulement séquentiel d'une étude, la première séquence étant la réalisation d'un plan factoriel 2^K . Si la validité du modèle du 1^{er} ordre n'est pas retenue, c'est-à-dire, la réponse mesurée statistiquement est différente de celle calculée au même point et s'il semble que le centre de l'expérience soit proche de l'optimum, on ajoutera d'autres essais pour établir un modèle du 2^{ème} ordre. Les nouvelles combinaisons des traitements sont représentées par les points d'expériences à une distance α du centre du domaine expérimental et appartiennent aux axes du plan factoriel, dits points en étoiles et par n_0 répétitions au centre du domaine conduisant à n essais égale à la somme : [43]

- des essais du plan factoriel (ou fractionnaire), notés n_f ;
- des essais du plan en étoile, notés n_α ;
- des essais au centre, notés n_0 .

Le modèle mathématique postulé utilisé avec les plans composites est un modèle de second degré avec interactions. On ne conserve, en générale, que les interactions d'ordre deux. [51]
 Pour trois facteurs l'équation du modèle s'écrit :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{11}X_1^2 + b_{22}X_2^2 + b_{33}X_3^2 \dots (6)$$

❖ **Calcul des coefficients du modèle**

Le plan d'expériences peut se retranscrire sous la forme :

$$Y = X B + E \dots \dots \dots (7)$$

Avec :

Y : le vecteur des résultats d'essais ;

X : la matrice du modèle ;

B : le vecteur des estimations des coefficients ;

E : la matrice d'erreurs.

La matrice **X** n'étant pas souvent une matrice carrée, nous avons recourt pour résoudre ce problème à l'écriture matricielle de la méthode des moindres carrés, dont l'équation est :

[50]

$$B = (X^t X)^{-1} X^t Y \dots \dots \dots (8)$$

❖ **Analyse statistique**

- **Vérification de la signification des coefficients**

La signification des coefficients est étudiée par le test de Student. [51]

Les valeurs des t_j sont calculées par l'expression suivante :

$$t_j = \frac{|b_j|}{S_{b_j}} \dots \dots \dots (9)$$

t_j : suit une loi de Student ;

b_j : le jème coefficient de l'équation de régression ;

S_{b_j} : La variance des coefficients du modèle elle est définit par :

$$S_{b_j} = \frac{S_{rep}}{\sqrt{N}} \dots \dots \dots (10)$$

Avec :

N : le nombre d'essais.

La variance des mesures (ou de reproductibilité) est estimée par celle calculée au centre du domaine expérimental :

$$S_{rep}^2 = \frac{\sum_{i=1}^{N_0} (y_i - \bar{y}_0)^2}{N_0 - 1} \dots \dots \dots (11)$$

y_i et **N₀** représentent respectivement la réponse et le nombre de points au centre du domaine.

➤ La moyenne sur les mesures au centre :

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum_{i=1}^{n_0} y_i}{N_0} \dots\dots\dots(12)$$

Si la valeur t_j est supérieure à la valeur t_α 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. [51]

- Test de validation du modèle

Avant d'accepter le modèle postulé, il est impératif de vérifier que ce dernier décrit correctement les variations de la réponse en fonction des facteurs et cela en effectuant les tests suivants : [49]

• **Recherche de biais**

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

$$F1 = \frac{S^2_{res}}{S^2_{rep}} < F1_{(1-\alpha=0.95)} (f_1=N-P, f_2=N_0-1) \dots\dots\dots (13)$$

Avec :

$$S^2_{res} = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N-p} \dots\dots\dots (14)$$

Avec

P : Le nombre de coefficients significatifs.

\hat{y}_i : La réponse prédite pour l'échantillon « i ».

Pour vérifier si la différence est significative, il faut d'abord lire dans la table de Fisher la valeur $F_{(1-\alpha)}$ ($f_1=N-P, f_2=N_0-1$) cela signifie que la différence entre les deux variances est petite, la variance des résidus est aussi aléatoire, c'est à dire que le modèle est sans biais.

- 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 (expliquée par le modèle) à la variance résiduelle. [49]

$$F2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2 / P}{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / (N-P)} = \frac{S^2_{reg}}{S^2_{res}} \dots\dots\dots(15)$$

Avec \bar{y} la moyenne des réponses des essais qui est donnée par :

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N} \dots\dots\dots (16)$$

Si F2 est supérieur à celle tabulée du test de Fisher $F2_{(1-\alpha)}$ ($f_1=P, f_2=N-P$) pour le niveau de signification $\alpha=0,05$ et le nombre de degré de liberté $f_1= P$ et $f_2 =N-P$, dans ce cas, les variables retenues pour la modélisation ont, dans leur ensemble un effet significatif sur y et l'équation est adéquate. [49]

- **Coefficient de détermination**

Le coefficient de détermination appelé aussi coefficient de régression R^2 est le rapport entre la dispersion expliquée (due à la régression) par la dispersion totale :

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} \dots\dots\dots (17)$$

Plus le coefficient de détermination est proche de 1, plus le modèle est meilleur. Lorsque la série d'échantillon est d'étendue assez faible, il est nécessaire d'apporter une correction pour l'erreur. L'estimation de la force de la liaison par le coefficient de corrélation multiple est d'autant plus exagérée que le nombre de degré de liberté de l'échantillon $f=N-P$ est plus petit. La formule de correction est la suivante : [49]

$$R^2_{\text{corr}} = R^2 - (1-R^2) \frac{P-1}{N-P} \dots\dots\dots (18)$$

- **Analyse des résidus**

Un résidu est la différence entre la réponse observée et la réponse calculée. L'analyse des résidus consiste à porter ces résidus (e_i) en fonction des réponses prédites ou en fonction d'autres grandeurs. On peut ainsi détecter s'il existe une relation entre les résidus et la grandeur portée en abscisse. On doit arriver à des diagrammes ne laissant apparaître aucune relation ou tendance entre les grandeurs étudiées [50]. Une autre manière de tester le modèle est de calculer en pourcentage, les écarts relatifs (ER) entre les valeurs prédites par le modèle et celles observées. Le modèle est d'autant plus précis dans sa prédiction des réponses que les valeurs de l' ER_i sont plus proches de zéro.

$$e_i = y_i - \hat{y}_i \dots\dots\dots(19)$$

$$ER_i (\%) = 100 \times \frac{y_i - \hat{y}_i}{y_i} \dots\dots\dots(20)$$

Chapitre 02:

Matériels

et

Méthodes

Chapitre 2

Matériels et méthodes

2.1. Logiciels, appareillage et matériels utilisés

- Les logiciels Excel 2010 et MATLAB 2010 pour les calculs et traitements des résultats.
- Un spectrophotomètre «EVOLUTION 220, Thermo SCIENTIFIC», couplé avec un micro-ordinateur, pour le tracé des différents spectres d'absorption UV-visible et la lecture des absorbances à des longueurs d'ondes bien définies.
- Une balance électronique (OHAUS) de précision de 0,0001 g.
- Un thermomètre à mercure pour la mesure de la température de l'eau.
- Une micropipette «Accumax PRO», ayant un domaine de 100 à 1000 µl.
- Une plaque chauffante (KIKA, LABORTECHNIK) pour le chauffage de l'eau distillée.
- Un conductimètre (INOLAB) pour la de la conductivité de l'eau.
- Un broyeur (RETSCH. ZM 200) pour le broyage de la matière sèche.
- Une étuve (MEMMERT) réglée à 50 °C pour le séchage des plantes.
- Un distillateur (G.F.L) pour la préparation de l'eau distillée.
- Boîtes à pétri.
- Spatule.
- Fioles de 25 ml, 50 ml, 100 ml.
- Erlenmeyer 100 ml.
- Becher 50 ml.
- Pipette.
- Papier aluminium.
- PARAFILM.
- Papier absorbant.
- Papier filtre Waterman
- Pissette.
- Entonnoir.

2.2. Produits chimiques

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences sont rassemblés dans le Tableau 2.

Tableau 3 : Les réactifs utilisés lors des expériences.

Réactifs utilisés	Masse molaire (g/mol)	Pureté (%)	Formule chimique	Fournisseur
Trichlorure d'aluminium hexa hydraté	241,33	100	AlCl ₃ , 6H ₂ O	Fluka chemika
Carbonate de sodium.	105,99	99,8	Na ₂ CO ₃	Biochem chemopharma
Réactif de Folin – Ciocalteu	/	/	/	Biochem chemopharma
Méthanol	32,04	99	CH ₄ O	
Acide gallique	188,14	/	C ₇ H ₆ O ₅ , H ₂ O	Biochem chemopharma
Quercétine	302,24	95	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	Sigma
DPPH	394,32	95	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	Alfa aesar

2.3. Prétraitements du matériel végétal

Nous avons utilisé deux plantes, le laurier et l'oseille de Guinée.

2.3.1. Laurier

A. Séchage

Pour éliminer l'humidité, la matière végétale est placée dans une étuve à 50 °C jusqu'à ce que sa masse se stabilise. Une température de 50 °C protège les substances sensibles à la chaleur telles que les polyphénols et les vitamines de la décomposition.

B. Broyage

Les feuilles séchées du laurier, sont broyées dans un moulin électrique de marque RETSCH jusqu'à l'obtention d'une poudre fine et homogène. Cette dernière est ensuite tamisée à travers un tamis contenant une taille de maille de 80 µm. La poudre obtenue est conservée dans des boîtes de Pétri et conservée dans un dessiccateur à l'abri de la lumière.

2.3.2. L'oseille de Guinée

Nous avons obtenu cette plante par le professeur, Mme SENHADJI, elle l'avait séchée et broyée, et nous l'avons juste tamisée et mise dans des boîtes de Pétri et conservées dans un dessiccateur à l'abri de la lumière.

2.4. Préparation des solutions

– Solution de Folin-Ciocalteu diluée

Ajouter un volume de 1 ml de FC avec 9 ml d'eau distillée, et conserver la solution obtenue à l'abri de la lumière au réfrigérateur.

– Solution de chlorure d'Aluminium ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$)

Une quantité de chlorure d'aluminium de masse 3,62 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg) a été versée dans un ballon de 100 ml, sous la hotte une quantité de méthanol a été ajoutée et agitée jusqu'à dissolution complète, puis remplie au trait de jauge.

– Solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3)

Une masse de 7,5 g de carbonate de sodium a été versée dans un ballon de 100 ml contenant une quantité d'eau distillée et on agite jusqu'à dissolution complète, puis on complète au trait de jauge avec de l'eau distillée.

2.5. Quantification et dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux

2.5.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols présents dans les extraits de plantes étudiés sont quantifiés par spectrophotométrie basée sur des réactions redox utilisant le réactif de Folin Ciocalteu (FC) comme agent oxydant.

2.5.2. Principe

Les mesures des polyphénols à l'aide du réactif de Folin Ciocalteu sont dans un milieu alcalin le polyphénol réduit ce réactif en oxydes de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), qui présentent une coloration bleue. [51]

2.5.3. Protocole

On mélange 1 ml de l'extrait avec 1 ml du réactif Folin Ciocalteu, puis on ajoute 0.08 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) au mélange. Après incubation pendant 30 minutes dans l'obscurité, l'absorbance est lue à une longueur d'onde de 760 nm. Le blanc est élaboré dans le même mode opératoire sauf que l'extrait est remplacé par de l'eau distillée.

Étapes de dosage des polyphénols

Mettre 1 ml de l'extrait + 1 ml de FC à 1 N (diluée 10 fois) dans une fiole de 25 ml

Après 5 min, ajouter 0,8 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3)

Incuber pendant 30 min à l'obscurité et à température ambiante

Mesurer l'absorbance à $\lambda = 760 \text{ nm}$

Figure 21 : Étapes du dosage des polyphénols totaux [51]

2.5.4. Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :

On utilise la courbe d'étalonnage pour déterminer l'intervalle de linéarité, et la validité de la loi de Beer-Lambert, on obtient cette courbe en traçant l'évolution de l'absorbance maximale correspondant à la longueur d'onde de 760 nm en fonction de la concentration du composé considéré. L'acide gallique est utilisé comme témoin positif pour différentes concentrations initiales il est réalisé en parallèle dans les mêmes conditions opératoires que les solutions à base de l'extrait.

2.5.5. Préparation de la solution mère de l'acide gallique :

À l'aide d'une balance, on pèse 0,02 g de l'acide gallique, versé dans une fiole de 50 ml, on y rajoute une quantité d'eau distillée et l'on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

2.5.6. Détermination des étalons :

Nous avons préparé des étalons à différentes concentrations dans des fioles de 25 ml à partir de la solution mère d'acide gallique. 1 ml d'extrait + 1 ml de FC 1N (dilué 10 fois) 5 minutes plus tard on a ajouté 0,8 ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3), incubé pendant 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité, et on mesure l'absorbance à $\lambda = 760 \text{ nm}$.

D'après la loi de dilution les volumes de la solution mère (V_0) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante :

$$C_0 \times V_0 = C \times V \dots \dots \dots (21)$$

Avec $C_0 = 0,2 \text{ g}/50 \text{ ml}$ ($C_0 = 4 \times 10^{-4} \text{ g/ml} = 0,4 \text{ mg/ml}$), et $V = 50 \text{ ml}$

Les concentrations et les volumes pour l'établissement de la courbe d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Concentration des étalons de l'acide gallique.

C (10 ⁻² mg/ml)	0,05	0,16	0,32	0,4	0,48	0,64	0,72	0,88	1,28	1,6	2
V ₀ (ml)	0,08	0,1	0,2	0,25	0,3	0,4	0,45	0,55	0,8	1	1,25

2,08	2,4	2,8	3,2	4	4,8	5,2	5,6	6,4	7,6	8
1,3	1,5	1,75	2	2,5	3	3,25	3,5	4	4,75	5

2.5.7. Calcul de la teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière sèche. Elle est calculée d'après l'équation de la droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Les extraits sont préparés en ajoutant 0,2 g de la matière sèche à 50 ml d'eau distillée, donc une concentration de

$$[MS] = \frac{0,2 \text{ g MS}}{50 \text{ ml}} = 4 \times 10^{-3} \frac{\text{g MS}}{\text{ml eau}} \dots\dots\dots(22)$$

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

$$[PT] = X \text{ (mg EAG/ml)} \dots\dots\dots (23)$$

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

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \frac{X}{4 \times 10^{-3}} = 250X \left(\text{mg} \frac{\text{EAG}}{\text{g MS}} \right) \dots\dots\dots(24)$$

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

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \left[\frac{X}{4 \times 10^{-3}} \right] \times 100 = 25000X \left(\frac{\text{g EAG}}{100 \text{ g MS}} \right) \dots\dots\dots(25)$$

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

2.5.8. Dosage des flavonoïdes :

2.5.8.1. Principe :

Le dosage des flavonoïdes totaux implique la formation de complexes entre les flavonoïdes et le chlorure d'aluminium (AlCl_3) [53]. La formation de liaisons covalentes entre le trichlorure d'aluminium et les groupes hydroxyle (OH) des flavonoïdes produit un complexe jaune avec une absorbance maximale à 430 nm. [52]

2.5.8.2. Protocole :

La concentration des flavonoïdes dosés est exprimée en mg équivalent de quercétine /g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine. Le blanc est préparé dans les mêmes conditions opératoires, la liqueur est remplacée par le méthanol.

Le blanc est fabriqué dans les mêmes conditions opératoires sauf que l'extrait est remplacé par de l'eau distillée [51].

Le protocole du dosage est effectué comme suit :

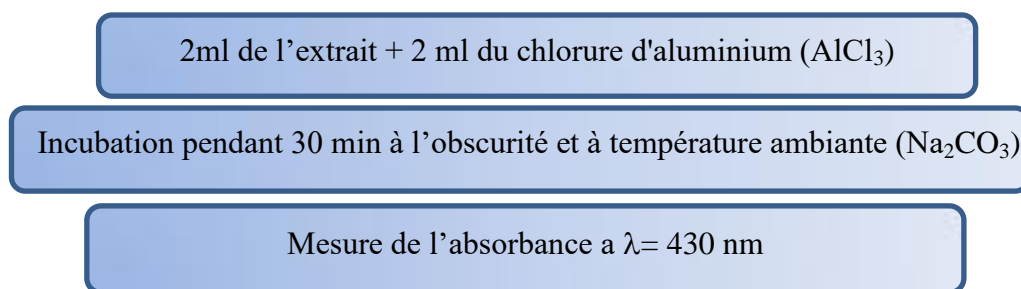


Figure 22 : Étapes du dosage des flavonoïdes totaux [51]

2.5.8.3. 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.

2.5.8.4. Préparation de la solution mère de quercétine

0,0125 g de la quercétine est introduite dans une fiole de 100 ml, sous la hotte, on ajoute du méthanol et l'on agite jusqu'à la dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

2.5.8.5. Préparation des étalons

Des solutions étalons de différentes concentrations ont été préparées dans des fioles de 25 ml à partir d'une solution mère de quercétine. La quantité de la solution mère (V_0) à ajouter pour la préparation de ces étalons selon la loi de dilution est calculée comme suit :

$$C_0 \times V_0 = C \times V \dots\dots\dots(26)$$

Avec $C_0 = 0,0125 \text{ g}/100 \text{ ml}$ ($C_0 = 0,125 \text{ mg}/\text{ml}$), et $V = 50 \text{ ml}$.

Les concentrations et volumes utilisés pour créer la courbe d'étalonnage sont résumés dans le tableau 4 ci-dessous :

Tableau 5 : Concentration des étalons de la quercétine.

C (10^{-2} mg/ml)	0,224	0,28	0,336	0,504	0,56	0,672	0,784	0,896	1,12
V_0 (ml)	0,1	0,125	0,15	0,225	0,25	0,3	0,35	0,4	0,5

1,568	1,792	2,016
0,7	0,8	0,9

2.5.8.6. Dosage des étalons

Nous avons procédé à l'analyse de ces étalons selon le même protocole de mesure des flavonoïdes totaux et créé une courbe d'étalonnage pour la mesure des flavonoïdes en mesurant l'absorbance de différents étalons testés à une longueur d'onde de 430 nm

2.5.8.7. Calcul de la teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg d'équivalent quercétine pour 100 g de matière sèche. Elle est calculée à partir de la formule de la courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les extraits sont préparés en ajoutant 0,2g de la manière sèche à 50ml d'eau distillé, dont la concentration est de :

$$[MS] = \frac{(0,2g \text{ MS})}{50 \text{ ml}} = 0,004 \text{ g MS /ml eau} \dots\dots\dots(27)$$

Après la lecture de l'absorbance à 430 nm, on calcule la concentration des FT en mg EQ à partir de l'équation de la droite d'étalonnage obtenue.

$$[FT] = X \text{ (mg EQ/ml)} \dots\dots\dots(26)$$

La teneur en flavonoïde est exprimée en mg EQ/g MS

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \frac{X}{0,004} = 250X \left(\frac{\text{mg EQ}}{\text{g MS}} \right) \dots\dots\dots(28)$$

La teneur en flavonoïde est exprimée en mg EQ/100 g MS

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \left[\frac{X}{0,004} \right] \times 100 = 25000X \left(\frac{mg EQ}{100g MS} \right) \dots\dots\dots(29)$$

X : Concentration des étalons en Q dans l'extrait (mg EQ/100 g MS).

2.6.Évaluation de l'activité antioxydante

2.6.1. Principe

Le DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense [53]. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances antioxydantes (AH), qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune. [54]

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. [55]

Le pourcentage d'activité antioxydant ($I\%$ =pourcentage d'inhibition du DPPH) est calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = 100 \times \frac{Abs(blanc) - Abs(échantillon)}{Abs(blanc)} \dots\dots\dots(30)$$

Avec

Abs blanc : absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon

Abs échantillon : absorbance de l'échantillon testé après 30 min d'incubation.

2.6.2. Calcul des IC50 :

IC50 ou concentration inhibitrice de 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. [56]

2.6.3. Protocole

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par Burits où 50 de la solution d'extrait testée à différentes concentrations sont mélangées avec 1.95 d'une solution méthanoïque de DPPH (0.0028 g/100 ml). Après incubation à l'obscurité pendant 30 min à température ambiante, l'absorbance est mesurée à la longueur d'onde de 515 nm. [57]

2.7. Application des plans d'expériences :

Les résultats sont traités par le logiciel MATLAB. Ce logiciel nous a permis de développer un plan complexe central d'expériences. Avec ce type de planification, vous pouvez tester trois

paramètres : la température d'infusion, le temps d'infusion et la concentration en masse de l'extrait. Chaque paramètre est limité en fonction des recherches préliminaires menées.

Dans ce cas on a utilisé deux intervalles différant pour la masse de l'hibiscus sabdariffa

Les valeurs extrêmes des paramètres opératoires (Z1, Z2, Z3) sont résumées dans les tableaux 5 et 6.

Tableau 6 : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés pour la première matrice.

Niveau	$\alpha = -1,68$	-1	0	1	$\alpha = 1,68$
Z1=m (mg MS/ml eau)	0.04	0.0562	0.08	0.1038	0.12
Z2=T (°C)	30	42.14	60	77.86	90
Z3=t (min)	2	3.62	6	8.38	10

Tableau 7 : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés pour la deuxième matrice.

Niveau	$\alpha = -1,68$	-1	0	1	$\alpha = 1,68$
Z1=m (mg MS/ml eau)	0.01	0.02	0.035	0.05	0.06
Z2=T (°C)	30	42.14	60	77.86	90
Z3=t (min)	2	3.62	6	8.38	10

Tableau 8 : Matrice (1) correspondant aux valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés pour le premier intervalle

N° essai	X1	X2	X3	Z1(m)	Z2 (T)	Z3 (t)
1	-1	-1	-1	0.0562	42.14	3.62
2	1	-1	-1	0.1038	42.14	3.62
3	-1	1	-1	0.0562	77.86	3.62
4	1	1	-1	0.1038	77.86	3.62
5	-1	-1	1	0.0562	42.14	8.38
6	1	-1	1	0.1038	42.14	8.38
7	-1	1	1	0.0562	77.86	8.38
8	1	1	1	0.1038	77.86	8.38
9	0	0	0	0.08	60	6
10	0	0	0	0.08	60	6
11	0	0	0	0.08	60	6
12	0	0	0	0.08	60	6
13	0	0	0	0.08	60	6
14	0	0	0	0.08	60	6
15	-1.68	0	0	0.04	30	6
16	1.68	0	0	0.12	90	6
17	0	-1.68	0	0.08	60	6

N° essai	X1	X2	X3	Z1(m)	Z2 (T)	Z3 (t)
18	0	1.68	0	0.08	60	6
19	0	0	-1.68	0.08	60	2
20	0	0	1.68	0.08	60	10

Tableau 9 : Matrice(2) correspondant aux valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudiés pour le deuxième intervalle

N° essai	X1	X2	X3	Z1(m)	Z2 (T)	Z3 (t)
1	-1	-1	-1	0.02	42.14	3.62
2	1	-1	-1	0.05	42.14	3.62
3	-1	1	-1	0.02	77.86	3.62
4	1	1	-1	0.05	77.86	3.62
5	-1	-1	1	0.02	42.14	8.38
6	1	-1	1	0.05	42.14	8.38
7	-1	1	1	0.02	77.86	8.38
8	1	1	1	0.05	77.86	8.38
9	0	0	0	0.035	60	6
10	0	0	0	0.035	60	6
11	0	0	0	0.035	60	6
12	0	0	0	0.035	60	6
13	0	0	0	0.035	60	6
14	0	0	0	0.035	60	6
15	-1.68	0	0	0.01	30	6
16	1.68	0	0	0.06	90	6
17	0	-1.68	0	0.035	60	6
18	0	1.68	0	0.035	60	6
19	0	0	-1.68	0.035	60	2
20	0	0	1.68	0.035	60	10

Chapitre 03:
Résultats
et
Discussions

Chapitre 3

Résultats et Discussions

3.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

3.1.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par spectrophotométrie UV visible en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus sont exprimés en g équivalents d'acide gallique par 100 grammes de matière sèche (g EAG / 100 g MS), en utilisant la formule de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

➤ Courbe d'étalonnage

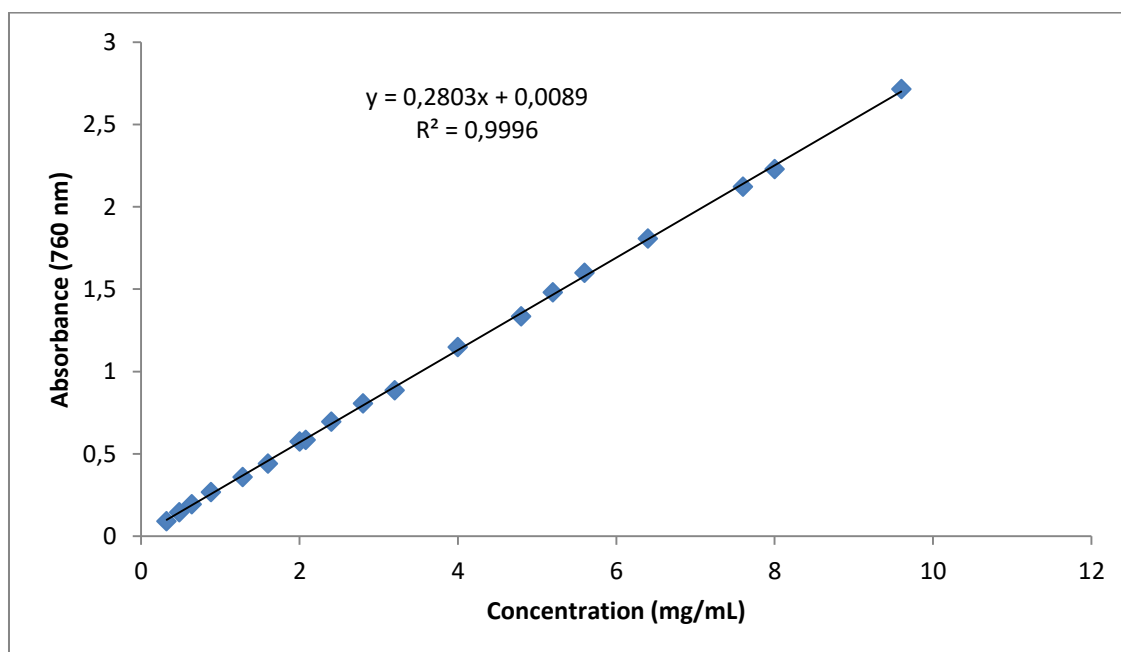


Figure 23 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

3.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

Les mesures des flavonoïdes totaux ont été réalisées par spectrophotométrie UV visible. Après ajustement, les résultats obtenus sont exprimés en g équivalent de quercétine par 100 g de Matière sèche en utilisant l'équation de régression linéaire de la courbe d'étalonnage de la quercétine.

➤ Courbe d'étalonnage

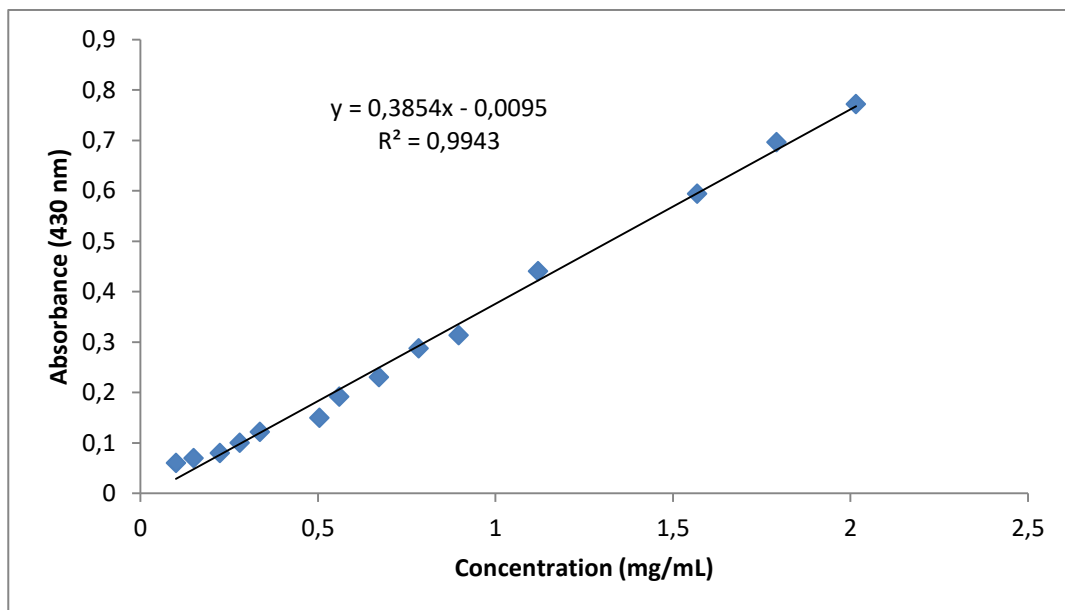


Figure 24 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine

3.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences

3.2.1. Teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux

Le tableau 10 montre les valeurs des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux dans les extraits d'infusion des poudres des feuilles de laurier et des fleurs d'hibiscus.

Tableau 10 : Valeurs des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux

Essai N°	Réponses					
	TPT (g EAG/100 g MS)			TFT (g EQ/100 g MS)		
	Laurier	Hibiscus Matrice 1	Hibiscus Matrice 2	Laurier	Hibiscus Matrice 1	Hibiscus Matrice 2
1	4,5803	2,7140	3,0512	0,4063	0,4405	1,2378
2	3,9352	2,4756	3,1042	0,2892	0,3164	0,6568
3	4,9361	3,1655	3,2469	0,4078	0,4755	1,3362
4	3,9842	2,7034	3,0062	0,3150	0,3452	0,7167
5	4,6228	2,7242	3,2325	0,3941	0,4561	1,2816
6	3,8235	2,4560	3,0806	0,2627	0,3253	0,4962
7	4,7703	2,9334	3,1766	0,3343	0,4724	0,9803
8	4,0457	2,7997	3,0968	0,2998	0,3512	0,4955
9	4,2108	2,7359	3,1744	0,1611	0,3495	0,7989
10	4,2698	2,5616	3,2281	0,1774	0,3629	0,8295
11	4,2863	2,7231	3,2225	0,1993	0,4438	1,0144
12	4,2386	2,7761	3,2620	0,2098	0,4236	0,9682
13	4,1475	2,7373	3,2959	0,2030	0,4007	0,9158
14	4,1753	2,7865	3,1824	0,2211	0,4022	0,9193
15	4,9793	2,8504	4,1754	0,5029	0,5771	2,3085
16	3,7585	2,4597	2,9342	0,2533	0,3184	0,6368
17	3,7760	2,6518	2,8243	0,3073	0,3620	0,8274
18	4,5639	2,9398	3,2214	0,3640	0,4027	0,9204
19	4,3238	2,7352	2,8516	0,3418	0,3829	0,8753
20	4,5434	2,7515	3,3159	0,2992	0,3812	0,8713

D'après les résultats du **tableau 10**, les teneurs en polyphénols totaux (TPT) des différents extraits d'infusion obtenus en fonction des paramètres d'extraction étudiés (la masse de la matière sèche par unité de volume d'eau, la température et le temps d'infusion) varient entre :

→ **3,7585** et **4,793** g EAG/100g MS pour le laurier,

→ **2,4560** et **4,1754** g EAG/100g MS pour l'hibiscus,

Alors que pour les teneurs en flavonoïdes totaux (TFT), elles varient entre :

→ **0,1611** et **0,5029** g EQ/100g MS pour le laurier,

→ **0,3164** et **2,3085** g EQ/100g MS pour l'hibiscus.

Ce qui confirme l'influence des paramètres sélectionnés (temps, température et la concentration massique) sur le taux d'extraction des PT et FT,

3.2.2. Laurier

Les résultats expérimentaux des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux obtenus sont rassemblés dans le tableau 10.

3.2.2.1. Elaboration du modèle de 1er degré :

A. Test de signification des coefficients :

L'application du test statistique de Student permet de vérifier la signification des coefficients et d'en éliminer les non significatives.

S: Significatif

NS : Non Significatif

Tableau 11: Valeurs et signification des coefficients du modèle

	Coefficient	Valeur	Ecart-type	T Student Calculé	T Student tabulé	Signification du coefficient
Polyphénols	b₀	4,3373	0,0191	227,5112	2,571	S
	b₁→Cm	-0,3901		20,4631		S
	b₂→T	0,0968		5,0785		S
	b₃→ t	-0,0217		1,1377		NS
	b₁₂	0,0290		1,5214		NS
	b₁₃	0,0091		0,4789		NS
	b₂₃	-0,0044		0,2288		NS
Flavonoïdes	b₀	0,3352	0,0062	53,763	2,571	S
	b₁→Cm	-0,0435		6,9831		S
	b₂→T	0,004		0,6447		NS
	b₃→ t	-0,0125		2,0013		NS
	b₁₂	0,0117		1,8785		NS
	b₁₃	0,0021		0,3330		NS
	b₂₃	-0,0097		1,5526		NS

Après l'élimination par le test de Student des coefficients non significatifs, les équations du modèle de premier degré s'écrit :

• Polyphénols :

$$Y = 0,3575 - 0,4103X_1 + 0,0709X_2 \dots\dots\dots(31)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✚ On remarque que dans cet intervalle juste la masse et la température qui influence sur le modèle.

- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ L'effet de la température (X2) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de la température).
- ✚ On remarque que le temps n'influe pas sur ce modèle.
- ✚ Pas d'interactions entre les paramètres.

• Flavonoïdes :

$$Y = 0,3352 - 0,435X_1 \dots \dots \dots (32)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 2.
- ✚ Juste le coefficient de la masse qui influence sur la réponse.
- ✚ Le coefficient de la concentration massique (X1) est négatif, la masse influe négativement sur la TFT, cela signifie qu'en augmentant la MS par ml d'eau utilisée pour l'infusion, la TFT diminue.
- ✚ Les effets d'interaction b12, b13, b23 sont nuls.

B. Test de validité du modèle (recherche de biais) :

La validité du modèle est déterminée par le test de Fisher, qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance reproductibilité (S^2_{rep}),

Tableau 12 : Analyse de la variance - Recherche de biais

	Variances	Somme des Carrés	Degré de Liberté	Carré Moyen	F ₁	F _{tabulé}
Polyphénols	Résiduelle	0,0295	5	$5,9 \cdot 10^{-3}$	2,03	5,05
	Reproductible	0,0145	5	$2,9 \cdot 10^{-3}$		
Flavonoïdes	Résiduelle	0,0045	6	$3,1 \cdot 10^{-4}$	2,41	4,95
	Reproductible	0,0016	5	$7,5 \cdot 10^{-4}$		

La valeur F_1 calculée 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.

C. Test de la signification globale de la régression

La signification globale de la régression est vérifiée par le test F de Fisher, qui compare la variance due à la régression S^2_{reg} à la variance résiduelle S^2_{res} .

$F_{calculé} > F_{tabulé}$, la régression est significative (le modèle est validé à 95%),

Tableau 13 : Analyse de la variance – Signification globale de la régression

	Variance	Somme des carrés	Degré de Liberté	Carré Moyen	F_2	$F_{tabulé}$
Polyphénols	Régression	151,7871	2	50,5957	8573,50	5,14
	Résiduelle	0,0295	5	0,0059		
Flavonoïdes	Régression	0,9352	1	0,4676	552,89	
	Résiduelle	0,0045	6	$3,1103 \cdot 10^{-4}$		

Comme F_2 calculé est nettement supérieur à F_2 tabulé, la régression est significative ; Les coefficients retenus pour la modélisation ont dans leur ensemble un effet significatif sur le processus d'infusion des polyphénols et des flavonoïdes contenues dans notre extrait.

3.2.2.2. Elaboration du modèle de 2ème degré

A. Test de signification des coefficients

Tableau 14: Valeurs et signification des coefficients du modèle

	Coefficient	Valeur	Ecart-type	T de Student	T tabulé	Signification du coefficient
Polyphénols	b₀	4,2212	0,00098	134,74	2,571	S
	b₁→Cm	-0,379	0,00043	18,226		S
	b₂→T	0,1538	0,00043	7,3939		S
	b₃→ t	0,0143	0,00043	0,6886		NS
	b₁₂	-0,029	0,00074	1,0679		NS
	b₁₃	0,0091	0,00074	0,3361		NS
	b₂₃	-0,0044	0,00074	0,1606		NS
	b₁₁	0,0537	0,00041	2,648		S
	b₂₂	-0,0168	0,00041	0,8293		NS
	b₃₃	0,0766	0,00041	3,7797		S
Flavonoïdes	b₀	0,1985	0,0072	27,5963	2,571	S
	b₁→Cm	-0,0583	0,0048	12,2035		S
	b₂→T	0,0073	0,0048	1,5349		NS
	b₃→ t	-0,0146	0,0048	3,0512		S
	b₁₂	0,0151	0,0062	2,4287		NS
	b₁₃	0,0055	0,0062	0,8832		NS
	b₂₃	-0,0063	0,0062	1,0024		NS
	b₁₁	0,0606	0,0047	13,0172		S
	b₂₂	0,0455	0,0047	9,7871		S
	b₃₃	0,0402	0,0047	8,6332		S

- **Polyphénols**

$$Y = 4,2212 - 0,379X_1 + 0,1538X_2 + 0,0537X_1^2 + 0,0766X_3^2 \dots \dots \dots (33)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 5.
- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique) par contre en interaction carré elle influe positivement.
- ✚ L'effet de la température (X2) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de la température).
- ✚ L'effet du temps (X3) se manifeste pas ni en soit même ni dans l'interaction double avec d'autre paramètres mais il est présent en interaction carré.

- Flavonoïdes

$$Y = 0,1985 - 0,0583X_1 - 0,0146X_3 + 0,0606X_1^2 + 0,0455X_2^2 + 0,0402X_3^2 \dots (34)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 6.
- ✚ La Cm (X1) et le t (X3) influents négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique et du temps) par contre en interaction carré ils influent positivement.
- ✚ L'effet de la température (X2) n'intervient pas dans ce modèle en étant facteur linéaire mais il est présent en interaction carré.
- ✚ les interactions double b12 b13 b23 sont nuls dans ce modèle.

B. Test de validité du modèle (recherche de biais) :

Tableau 15 : Résultats de la validité du modèle-Recherche d'un biais

	Variance	Somme des carrés	Degré de Liberté	Carré Moyen	F ₁ calculé	F ₁ tabulé
Polyphénols	Résiduelle	0,1401	15	0,0093	1,5832	2,9013
	Reproductible	0,0145	5	0,0029		
Flavonoïdes	Résiduelle	0,0095	14	6,7613·10 ⁻⁴	2,1739	4,6400
	Reproductible	0,0016	5	7,5086·10 ⁻⁴		

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.

C. Test de la signification globale de la régression

Tableau 16 : Signification globale de la régression

	Variance	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré Moyen	F ₂ calculé	F ₂ tabulé
Polyphénols	Régression	2,4028	4	0,4805	64,293	5,858
	Variance Résiduelle	0,1401	15	0,0093		
Flavonoïdes	Régression	1,9179	5	0,3196	472,760	2,850
	Variance Résiduelle	0,0095	14	6,7613·10 ⁻⁴		

La valeur calculée du test de Fisher est $F_2=64.293$ et $F_2=472.76$ pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement, alors que la valeur tabulée pour le niveau de signification $\alpha=0,05$ est de 5,858 et 2,85. Comme F_2 calculé est supérieur à celui tabulé alors le modèle est globalement significatif et valide à 95%.

3.2.2.3. Test du pouvoir prédictif des modèles

Nous avons testé le pouvoir prédictif des modèles d'ordre 1 et 2 en calculant les pourcentages des écarts relatifs (ER(%)) des réponses estimées par les deux modèles par rapport aux valeurs observées pour les points au centre. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau (19)

Tableau 17 : Valeurs des TPT, TFT estimées, et ER(%) correspondants

Essai N°	Y observée		Modèle d'ordre 1			
			Y calculée		Ecart relatif (%)	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT
1	4,210	0,161	4,337	0,339	-3,003	-17,760
2	4,270	0,177	4,337	0,339	-1,580	-16,125
3	4,286	0,199	4,337	0,339	-1,189	-13,931
4	4,239	0,210	4,337	0,339	-2,328	-12,886
5	4,148	0,203	4,337	0,339	-4,575	-13,566
6	4,175	0,221	4,337	0,339	-3,879	-11,759

Modèle d'ordre 2			
Y calculée		Ecart relatif (%)	
PT	FT	PT	FT
4,221	0,196	-0,2461	-3,4703
4,221	0,196	1,1391	-1,8403
4,221	0,196	1,5197	0,3497
4,221	0,196	0,4114	1,3997
4,221	0,196	-1,7760	0,7197
4,221	0,196	-1,0984	2,5297

D'après le tableau 17, les écarts relatifs du modèle d'ordre 2 (équations 31 et 32) sont plus proche de zéro que ceux du modèle d'ordre 1 (équations 29 et 30).

Les valeurs des coefficients de détermination R^2 et $R^2_{\text{corrigé}}$ sont calculées en utilisant respectivement les équations 29, 30, 31 et 32.

Tableau 18 : Valeurs des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT

	Modèle de 1 ^{er} degré		Modèle de 2 ^{ème} degré	
	TPT	TFT	TPT	TFT
R^2	0,9998	0,9946	0,944	0,993
$R^2_{\text{corrigé}}$	0,9998	0,9938	0,941	0,992

Les résultats des coefficients de détermination permettent de juger de manière plus précise la qualité de l'ajustement réalisé. Les valeurs des coefficients R^2 (tableau 18) sont très proches de 1, ceci signifie que les modèles sont de bonnes qualités.

3.2.3. Hibiscus (première matrice)

Nous avons travaillé avec deux intervalles du paramètre X_1 (masse de la matière sèche par unité de volume d'eau). Les valeurs extrêmes des paramètres opératoires de la première et deuxième matrice sont données dans les tableaux 6 et 7 respectivement. Les résultats expérimentaux des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux obtenus sont rassemblés dans le tableau 10.

3.2.3.1. Elaboration du modèle de 1er degré :

A. Test de signification des coefficients :

L'application du test statistique de Student permet de vérifier la signification des coefficients et d'en éliminer les non significatives.

S: Significatif

NS: Non Significatif

Tableau 19: Valeurs et signification des coefficients du modèle

	Coefficient	Valeur	Ecart-type	T Student Calculé	T Student tabulé	Signification du coefficient
Polyphénols	b₀	2,7465	0,0288	95,3081	2,571	S
	b₁→Cm	-0,1378		4,7817		S
	b₂→T	0,1540		5,3455		S
	b₃→ t	-0,0181		0,6294		NS
	b₁₂	-0,0112		0,3871		NS
	b₁₃	0,0373		1,2954		NS
	b₂₃	-0,0158		0,5492		NS
Flavonoïdes	b₀	0,3978	0,0126	31,5564	2,571	S
	b₁→Cm	-0,0633		5,0211		S
	b₂→T	0,0132		1,0510		NS
	b₃→ t	0,0034		0,2703		NS
	b₁₂	0,0004		0,0339		NS
	b₁₃	0,0003		0,0241		NS
	b₂₃	-0,0027		0,2148		NS

Après l'élimination par le test de Student des coefficients non significatifs, les équations du modèle de premier degré s'écrivent :

- **Polyphénols :**

$$Y = 2.7465 - 0.1378 X1 + 0.1540 X2 \dots\dots\dots(35)$$

Nous remarquons :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ L'effet de la température (X2) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de la température).
- ✚ L'effet du temps (X3) ne se manifeste pas carrément.
- ✚ Pas d'interactions entre les factures.

- **Flavonoïdes :**

$$Y = 0.3978 - 0.0633 X1 \dots\dots\dots(36)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 2.
- ✚ La Cm (X1) influence négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ la température (X2) et le temps (X3) n'influence pas sur la réponse de ce modèle.
- ✚ Pas d'interactions entre les facteurs.

B. Test de validité du modèle (recherche de biais) :

La validité du modèle est déterminée par le test de Fisher, qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance reproductibilité (S^2_{rep}).

Tableau 20 : Analyse de la variance - Recherche de biais

	Variances	Somme des Carrés	Degré de Liberté	Carré Moyen	F ₁	F _{tabulé}
Polyphénols	Résiduelle	0,0328	5	0,00656	0,9880	5,0500
	Reproductible	0,0332	5	0,00664		
Flavonoïdes	Résiduelle	0,0016	6	$2,6490 \times 10^{-4}$	0,2084	4,9500
	Reproductible	0,0064	5	0,0013		

Après le calcul des variances résiduelles et reproductibles pour les polyphénols, puis pour les flavonoïdes, dans le test de Fisher, nous avons obtenu une valeur de F1 calculée inférieure à F1 tabulée. Les modèles obtenus ne présentent pas de biais, ils sont valides.

C. Test de la signification globale de la régression

La signification globale de la régression est vérifiée par le test F de Fisher, qui compare la variance due à la régression S^2_{reg} à la variance résiduelle S^2_{res} .

F calculé > F tabulé, la régression est significative (le modèle est validé à 95%).

Tableau 21 : Analyse de la variance – Signification globale de la régression

	Variance	Somme des carrés	Degré de Liberté	Carré moyen	F ₂	F _{tabulé}
Polyphénols	Régression	60,6873	2	20,2291	3,08×10 ³	5,1400
	Résiduelle	0,0328	6	0,0066		
Flavonoïdes	Régression	1,2981	1	0,6491	2,45×10 ³	
	Résiduelle	0,0016	6	2,65×10 ⁻⁴		

Le test de signification globale a montré que F₂ calculé est largement supérieure à F₂ tabulé donc la régression de ce modèle est globalement significative.

3.2.3.2. Elaboration du modèle de 2ème degré

A. Test de signification des coefficients

Tableau 22: Valeurs et signification des coefficients du modèle

	Coefficient	Valeur	Ecart-type	T de Student	T _{tabulé}	Signification du coefficient
Polyphénols	b ₀	2,7196	0,0011	81,8176	2,571	S
	b ₁ →Cm	-0,1289	0,0005	5,8415		S
	b ₂ →T	0,1257	0,0005	5,6999		S
	b ₃ →t	-0,0086	0,0005	0,3913		NS
	b ₁₂	-0,0112	0,0009	0,3871		NS
	b ₁₃	0,0373	0,0009	1,2954		NS
	b ₂₃	-0,0158	0,0008	0,5492		NS
	b ₁₁	-0,0200	0,0005	0,9302		NS
	b ₂₂	0,0299	0,0005	1,3893		NS
	b ₃₃	0,0113	0,0005	0,5249		NS

Flavonoïdes	b₀	0,3973	0,0145	27,3241	2,571	S
	b₁→Cm	-0,0690	0,0097	7,1446		S
	b₂→T	0,0128	0,0097	1,3235		NS
	b₃→ t	0,0018	0,0097	0,1848		NS
	b₁₂	0,0004	0,0126	0,0339		NS
	b₁₃	0,0003	0,0126	0,0241		NS
	b₂₃	-0,0027	0,0126	0,2148		NS
	b₁₁	0,0165	0,0094	1,7577		NS
	b₂₂	-0,0067	0,0094	0,7068		NS
	b₃₃	-0,0067	0,0094	0,7169		NS

• **Polyphénols**

$$Y = 2.7196 - 0.1289 X1 + 0.1257 X2.....(37)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✚ On remarque que dans les intervalles étudiés, juste la masse et la température qui influence sur le modèle.
- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ L'effet de la température (X2) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de la température).
- ✚ On remarque que le temps n'influe pas sur ce modèle.
- ✚ Pas d'interactions entre les facteurs étudiés.

• **Flavonoïdes**

$$Y = 0.3979 - 0.0690 X1...(38)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 2.
- ✚ Dans les intervalles étudiés, la masse seulement qui influence dans le modèle.
- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ La température (X2) et le temps ne se manifestent pas.

B. Test de validité du modèle (recherche de biais) :**Tableau 23 :** Résultats de la validité du modèle-Recherche d'un biais

	Variance	Somme des carrés	Degré de Liberté	Carré Moyen	F ₁ calculé	F ₁ tabulé
Polyphénols	Résiduelle	0,1100	17	0,0065	0,974	2,8100
	Reproductible	0,0332	5	0,0066		
Flavonoïdes	Résiduelle	0,0324	18	0,0018	1,4174	4,5800
	Reproductible	0,0064	5	0,0013		

En calculant les variances résiduelle et de reproductibilité pour les polyphénols et pour les flavonoïdes, On a obtenu les résultats du test de Fisher : $F_1=0,974$ pour les polyphénols et $F_1=1.4174$ pour les flavonoïdes. Ces valeurs sont inférieures à celles tabulées correspondantes, ce qui signifie que le modèle est valide.

C. Test de la signification globale de la régression**Tableau 24 :** Signification global de la régression

	Variance	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré Moyen	F ₂ calculé	F ₂ tabulé
Polyphénols	Régression	0,4467	3	0,2230	34,511	19,437
	Variance Résiduelle	0,1100	17	0,0070		
Flavonoïdes	Régression	3,2394	1	1,6197	898,766	3,550
	Variance Résiduelle	0,0324	18	0,0018		

Le test de Fisher permet de vérifier que la régression globale des modèles TPT et TFT est significative.

3.2.3.3. Test du pouvoir prédictif des modèles

Nous avons testé le pouvoir prédictif des modèles d'ordre 1 et 2 en calculant les pourcentages des écarts relatifs (ER(%)) des réponses estimées par les deux modèles par rapport aux valeurs observées pour les points au centre. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 25.

Tableau 25 : Valeurs des TPT, TFT estimées, et ER(%) correspondants

Essai N°	Y observée		Modèle d'ordre 1			
			Y calculée		Ecart relatif (%)	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT
1	2,7359	0,3495	2,7465	0,3978	-0,39	-13,83
2	2,5616	0,3629	2,7465	0,3978	-7,22	-9,62
3	2,7231	0,4438	2,7465	0,3978	-0,86	10,36
4	2,7761	0,4236	2,7465	0,3978	1,07	6,08
5	2,7373	0,4007	2,7465	0,3978	-0,33	0,71
6	2,7865	0,4022	2,7465	0,3978	1,44	1,08

Modèle d'ordre 2			
Y calculée		Ecart relatif (%)	
PT	FT	PT	FT
2,7196	0,3973	0,60	-13,69
2,7196	0,3973	-6,17	-9,49
2,7196	0,3973	0,13	10,47
2,7196	0,3973	2,03	6,20
2,7196	0,3973	0,65	0,84
2,7196	0,3973	2,40	1,21

D'après le tableau 25, les écarts relatifs du modèle d'ordre 2 (équations 37, 38) sont plus proches de zéro que ceux du modèle d'ordre 1 (équation 35 et 36).

Les valeurs des coefficients de détermination R^2 et $R^2_{\text{corrigé}}$ sont calculées en utilisant respectivement les équations 35, 36, 37 et 38.

Tableau 26 : Valeurs des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT

	Modèle de 1 ^{er} degré		Modèle de 2 ^{ème} degré	
	TPT	TFT	TPT	TFT
R^2	0,9996	0,9928	0,814	0,9901
$R^2_{\text{corrigé}}$	0,9996	0,9918	0,804	0,9896

En se basant sur les résultats des coefficients de détermination, On déduit que le modèle est bien ajusté, et que le pourcentage non expliqué par le modèle est négligeable.

3.2.4. Hibiscus (deuxième matrice)

Les résultats expérimentaux des teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux obtenus sont rassemblés dans le tableau 10.

3.2.4.1. Elaboration du modèle de 1er degré :

A. Test de signification des coefficients :

L'application du test statistique de Student permet de vérifier la signification des coefficients et d'en éliminer les non significatifs.

S: Significatif

NS: Non Significatif

Tableau 27: Valeurs et signification des coefficients du modèle

	Coefficient	Valeur	Ecart-type	T Student Calculé	T Student tabulé	Signification du coefficient
Polyphénols	b₀	3,1244		190,5959		S
	b₁→Cm	-0,0524		3,1984		S
	b₂→T	0,0072		0,4422		NS
	b₃→ t	0,0223	0,0164	1,3586	2,571	NS
	b₁₂	-0,0277		1,6905		NS
	b₁₃	-0,0055		0,3364		NS
	b₂₃	-0,0172		1,0487		NS
Flavonoïdes	b₀	0,9002		31,2391		S
	b₁→Cm	-0,3088		10,7180		S
	b₂→T	-0,0180		0,6237		NS
	b₃→ t	-0,0867	0,0288	3,0100	2,571	S
	b₁₂	0,0327		1,1364		NS
	b₁₃	-0,0087		0,3022		NS
	b₂₃	-0,0575		1,9964		NS

Après l'élimination par le test de Student des coefficients non significatifs, les équations du modèle de premier degré s'écrivent :

- **Polyphénols :**

$$Y = 3,1244 - 0,0524 X_1 \dots\dots\dots(39)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 2.
- ✚ Que dans les intervalles étudiés, uniquement la masse qui influence la TPT.
- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ La température et le temps n’influent pas sur la TPT.
- ✚ Pas d’interactions entre les paramètres.

• Flavonoïdes :

$$Y = 0,9002 - 0,3088 X1 - 0,0867 X3 \dots\dots\dots(40)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✚ Dans les intervalles étudiés, juste la masse et le temps qui influencent sur la TFT.
- ✚ La Cm (X1) influe négativement sur la teneur en FT (TFT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✚ Le temps d’infusion (X3) influe négativement sur la réponse TFT.
- ✚ La température n’a pas d’influence sur la TFT.
- ✚ Pas d’interactions entre les paramètres.

B. Test de validité du modèle (recherche de biais) :

La validité du modèle est déterminée par le test de Fisher, qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance reproductibilité (S^2_{rep}).

Tableau 28 : Analyse de la variance - Recherche de biais

	Variances	Somme des Carrés	Degré de Liberté	Carré Moyen	F ₁	F _{tabulé}
Polyphénols	Résiduelle	0,0299	6	0,0050	2,3146	4,9500
	Reproductible	0,0107	5	0,0021		
Flavonoïdes	Résiduelle	0,0526	5	0,0105		

	Reproductible	0,0332	5	0,0066	1,5843	5,0500
--	---------------	--------	---	--------	--------	--------

La valeur F1 calculée 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 est valide et ajuste bien les données expérimentales.

C. Test de la signification globale de la régression

La signification globale de la régression est vérifiée par le test F de Fisher, qui compare la variance due à la régression S^2_{reg} à la variance résiduelle S^2_{res} .

F calculé > F tabulé, la régression est significative (le modèle est validé à 95%).

Tableau 29 : Analyse de la variance – Signification globale de la régression

	Variance	Somme des carrés	Degré de Liberté	Carré moyen	F ₂	F _{tabulé}
Polyphénols	Régression	78,1157	1	39,0578	7,85×10 ³	5,1400
	Résiduelle	0,0299	6	0,0050		
Flavonoïdes	Régression	7,3054	2	2,4351	231,4013	
	Résiduelle	0,0526	5	0,0105		

Comme F2 calculé est nettement supérieur à F2 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 notre extrait.

3.2.4.2. Elaboration du modèle de 2ème degré

A. Test de signification des coefficients

Tableau 30 : Valeurs et signification des coefficients du modèle

	Coefficient	Valeur	Ecart-type	T de Student	T tabulé	Signification du coefficient
Polyphénols	b₀	3,2307	0,0189	170,8611	2,571	S
	b₁→Cm	-0,1836	0,0126	14,6239		S
	b₂→T	0,0531	0,0126	4,2337		S
	b₃→ t	0,0702	0,0126	5,5944		S
	b₁₂	-0,0277	0,0164	1,6905		NS
	b₁₃	-0,0055	0,0164	0,3364		NS
	b₂₃	-0,0172	0,0164	1,0487		NS
	b₁₁	0,0957	0,0122	7,8227		S
	b₂₂	-0,0928	0,0122	7,5839		S
	b₃₃	-0,0712	0,0122	5,8204		S
Flavonoïdes	b₀	0,9138	0,0332	27,4998	2,571	S
	b₁→Cm	-0,3869	0,0221	17,5392		S
	b₂→T	0,0009	0,0221	0,0417		NS
	b₃→ t	-0,0513	0,0221	2,3277		NS
	b₁₂	0,0328	0,0288	1,1372		NS
	b₁₃	-0,0087	0,0288	0,3024		NS
	b₂₃	-0,0575	0,0288	1,9972		NS
	b₁₁	0,1613	0,0215	7,5027		S
	b₂₂	-0,0509	0,0215	2,3653		NS
	b₃₃	-0,0511	0,0215	2,3752		NS

• Polyphénols

$$Y = 3,2307 - 0,1836 X_1 - 0,0531 X_2 - 0,0702 X_3 + 0,0957 X_1^2 - 0,0928 X_2^2 - 0,0712 X_3^2 \dots\dots(41)$$

Nous remarquons que :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 7.
- ✚ Dans les intervalles étudiés, tous les paramètres influent sur la TPT.
- ✚ La Cm (X1) et la température (X2) influent négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique et la température).
- ✚ Les coefficients quadratiques sont présents dans cette équation.

- **Flavonoïdes**

$$Y = 0,9138 - 0,3869 X_1 - 0,1613 X_1^2 \dots\dots\dots(42)$$

Nous remarquons :

- ✚ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3,
- ✚ La C_m (X_1) influe négativement sur la teneur en PT (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique),
- ✚ L'effet de la masse (X_1) intervient en coefficient linéaire et quadratique,
- ✚ Le temps et la température n'influent pas sur la TPT.

3.2.4.3. Test de validité du modèle de second degré :

- **Polyphénols :**

Les valeurs de la variance de reproductibilité S^2_{rep} estimées au centre du domaine, et de la variance résiduelle $S^2_{rés}$ calculée pour $N=20$ et $p=6$ (p étant le nombre de coefficients significatifs, et N le nombre totale des essais du plan composite) sont : $S^2_{rep} = 0,0076$, $S^2_{rés} = 0,0373$. La valeur de $F_1 = S^2_{rés} / S^2_{rep} = 4,8887$, alors que la valeur tabulée du F_1 de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f_1 = (N_0 - 1) = 5$ et $f_2 = (N - k) = 14$ est de 4,64. Comme la valeur de F_1 calculée est nettement supérieure à la valeur tabulée, le modèle est donc biaisé : il n'est pas valide.

- **Flavonoïdes :**

La valeur tabulée du F_2 de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f_1 = (k - 1) = 5$ et $f_2 = (N - k) = 17$ est de -144,71, Comme la valeur de F_2 tabulée est nettement supérieure à la valeur calculée, donc le modèle n'est pas significatif ; il n'est pas valide.

3.2.4.4. Test du pouvoir prédictif des modèles linéaires

Nous avons testé le pouvoir prédictif des modèles d'ordre 1 pour TPT et TFT en calculant les pourcentages des écarts relatifs (ER(%)) des réponses estimées par les deux modèles par rapport aux valeurs observées pour les points au centre, Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 31.

Tableau 31: Valeurs des TPT, TFT estimées, et ER(%) correspondants

Essai N°	Y observée		Modèle d'ordre 1			
			Y calculée		Ecart relatif (%)	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT
1	3,1744	0,7989	3,1244	0,9001	1,5759	-12,6721
2	3,2281	0,8295	3,1244	0,9001	3,2132	-8,5157
3	3,2225	1,0144	3,1244	0,9001	3,0450	11,2640
4	3,2620	0,9682	3,1244	0,9001	4,210	7,0898
5	3,2959	0,9158	3,1244	0,9001	5,2042	1,7103
6	3,1824	0,9193	3,1244	0,9001	1,8233	2,0845

D'après le tableau 32, les écarts relatifs des modèles d'ordre 1 (équations 37 et 38) sont négligeables (équation 39 et 40).

Les valeurs des coefficients de détermination R^2 et $R^2_{\text{corrigé}}$ sont calculées en utilisant respectivement les équations 37 et 38.

Tableau 32 : Valeurs des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT

	Modèle de 1 ^{er} degré	
	TPT	TFT
R^2	0,9996	0,9928
$R^2_{\text{corrigé}}$	0,9996	0,9918

En se basant sur les résultats des coefficients de détermination, on déduit que les modèles de premier degré pour la prédiction de TPT et TFT sont bien ajustés, et que les pourcentages non expliqués par ces modèles sont négligeables.

3.2.5. Optimisation du processus d'extraction des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux

L'exploitation du modèle prédictif obtenu, permet la recherche des valeurs optimales des paramètres opératoires conduisant au maximum de la teneur en PT, et FT. Les résultats obtenus sont rassemblés dans les tableaux 33, 34 et 35 pour le laurier et l'hibiscus.

Tableau 33 : Valeurs optimales des facteurs d'extraction pour le laurier.

	TPT	TFT
Modèle de premier degré	$Y = 0,3575 - 0,4103X_1 + 0,0709X_2$	$Y = 0,3352 - 0,435X_1$
	$X_1 = -1$ (0,0562 mg MS/mL eau) $X_2 = +1$ (77,86 °C)	$X_1 = -1$ (0,0562 mg MS/mL eau)
Modèle de deuxième degré	$Y = 4,2212 - 0,379X_1 + 0,1538X_2 + 0,0537X_1^2 + 0,0766X_3^2$	$Y = 0,1985 - 0,0583X_1 - 0,0146X_3 + 0,0606X_1^2 + 0,0455X_2^2 + 0,0402X_3^2$
	$X_1 = -1,68$ (0,04 mg MS/mL eau) $X_2 = +1,68$ (90 °C) $X_3 = +1,68$ (10 min)	$X_1 = -1,68$ (0,04 mg MS/mL eau) $X_2 = +1,68$ (90 °C) $X_3 = -1,68$ (2 min)

Tableau 34 : Valeurs optimales des facteurs d'extraction pour l'hibiscus (première matrice).

	TPT	TFT
Modèle de premier degré	$Y = 2,7465 - 0,1378X_1 + 0,1540X_2$	$Y = 0,3978 - 0,0633X_1$
	$X_1 = -1$ (0,0562 mg MS/mL eau) $X_2 = +1$ (77,86 °C)	$X_1 = -1$ (0,0562 mg MS/mL eau)
Modèle de deuxième degré	$Y = 2,7196 - 0,1289X_1 + 0,1257X_2$	$Y = 0,3979 - 0,0690X_1$
	$X_1 = -1,68$ (0,04 mg MS/mL eau) $X_2 = +1,68$ (90 °C)	$X_1 = -1,68$ (0,04 mg MS/mL eau)

Tableau 35 : Valeurs optimales des facteurs d'extraction pour l'hibiscus (deuxième matrice).

	TPT	TFT
Modèle de premier degré	$Y = 3,1244 - 0,0524X_1$	$Y = 0,9002 - 0,3088X_1 - 0,0867X_3$
	$X_1 = -1$ (0,02 mg MS/mL eau)	$X_1 = -1$ (0,02 mg MS/mL eau) $X_3 = +1$ (8 min)

3.2.6. Discussion générale

Effet du rapport masse/volume

Le rapport masse de la matière sèche/volume d'eau influence négativement et significativement l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans les échantillons de plantes étudiées. Les valeurs négatives du coefficient (relatif à ce paramètre) du modèle mathématique est de :

➤ Laurier :

Modèle 1^{er} degré : -0,4103 pour les PT et -0,0435 pour les FT

Modèle 2^{eme} degré : -0,379 pour les PT et -0,0583 pour les FT

➤ Hibiscus (première matrice) :

Modèle 1^{er} degré : -0,1378 pour les PT et -0,0633 pour les FT

Modèle 2^{eme} degré : -0,1289 pour les PT et -0,069 pour les FT

➤ Hibiscus (deuxième matrice) :

Modèle 1^{er} degré : -0,0524 pour les PT et -0,3088 pour les FT

La raison pourrait être liée au fait que si la quantité de la matière sèche (MS) est en excès comparée au volume d'eau utilisée pour l'extraction cela entraîne une saturation rapide du solvant. Cette quantité de MS peut aussi provoquer une augmentation de la viscosité du milieu et inhibe ainsi la diffusion des polyphénols à travers le milieu d'extraction. L'extraction ne sera donc pas complète et la masse de la MS introduite garde encore des polyphénols et flavonoïdes dans la masse filtrée. [58]

Effet de la température

La température influence significativement l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes de laurier et de l'hibiscus sabdariffa. L'utilisation de l'énergie thermique améliore l'efficacité de l'extraction par dérèglement des structures cellulaires. Cette perturbation entraîne une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire et une rupture des interactions métabolites secondaires matrice végétale (polyphénols), ce qui entraîne une amélioration de la solubilité des polyphénols et du transfert de masse. L'augmentation de la température du solvant pourrait également diminuer la tension superficielle et la viscosité du milieu d'extraction, par conséquent, améliorer le mouillage du matériel végétal, ce qui se traduirait par une extraction de polyphénols et flavonoïdes dans le milieu d'extraction, atteignant ainsi rapidement la saturation du solvant. [58]

Effet du temps

Le temps n'influence pas sur l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes de laurier et de l'hibiscus sabdariffa dans le modèle du premier degré pour le laurier et pour l'hibiscus dans l'intervalle du temps [3,62 - 8,38]. Il influence négativement sur les modèles du deuxième degré puisque l'augmentation de la température engendre la dégradation des polyphénols.

3.3. Teneurs des PT des extraits des deux plantes

3.3.1. Teneurs des PT

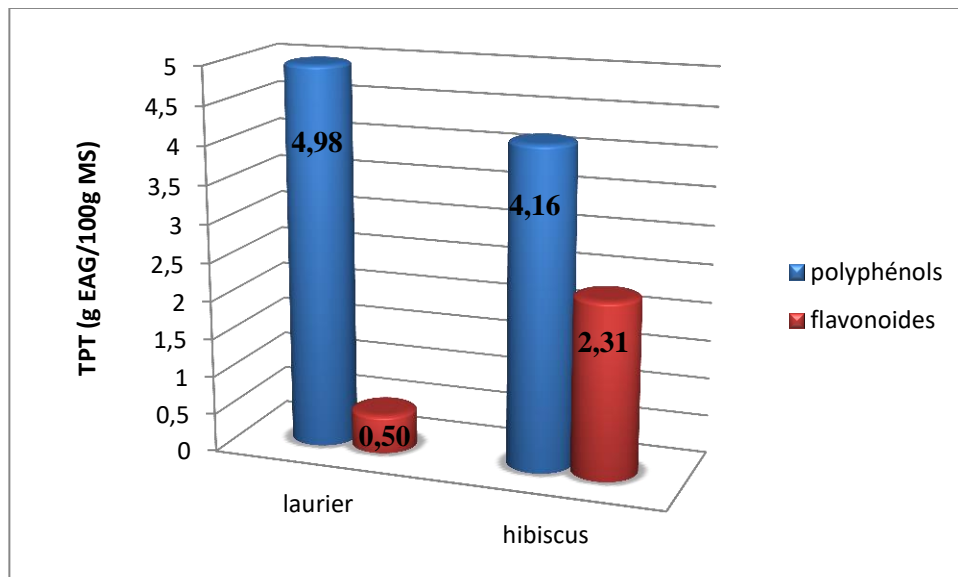


Figure 25 : Teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes par 100 g de MS

La figure 25 montre que les deux plantes étudiées contiennent des polyphénols avec des teneurs différentes, on voit que le laurier est plus riche en polyphénols que l'hibiscus avec respectivement les valeurs suivantes : 4,98 > 4,16 g EAG /100g MS.

Par contre la comparaison des valeurs en flavonoïdes, des différents extraits a montré que l'hibiscus est plus riche en flavonoïdes avec une teneur 2,31 g EQ/100g MS puis le laurier avec une teneur de 0,5 g EQ/100g MS.

Plusieurs études ont été effectuées sur la quantification des métabolites secondaires et surtout des polyphénols y compris les flavonoïdes vu l'importance de ces métabolites dans la recherche biomédicale, biochimiques et autres. L'étude de Mady CISSE [60], a trouvé que la teneur en polyphénols et en flavonoïdes présente dans l'hibiscus est différente selon la variété d'hibiscus. Ils ont trouvé que la teneur en PT de la variété Vimto est au moins deux fois plus importante que celle de Thai. Les résultats de la teneur en polyphénols totaux que nous avons obtenu ressemblent à celles trouvés pour la variété Thai de l'hibiscus.

3.4. Activité antioxydante

3.4.1. Pouvoir anti-radicalaire DPPH

L'activité antioxydant des différents extraits de la plante vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée par spectrophotométrie 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.

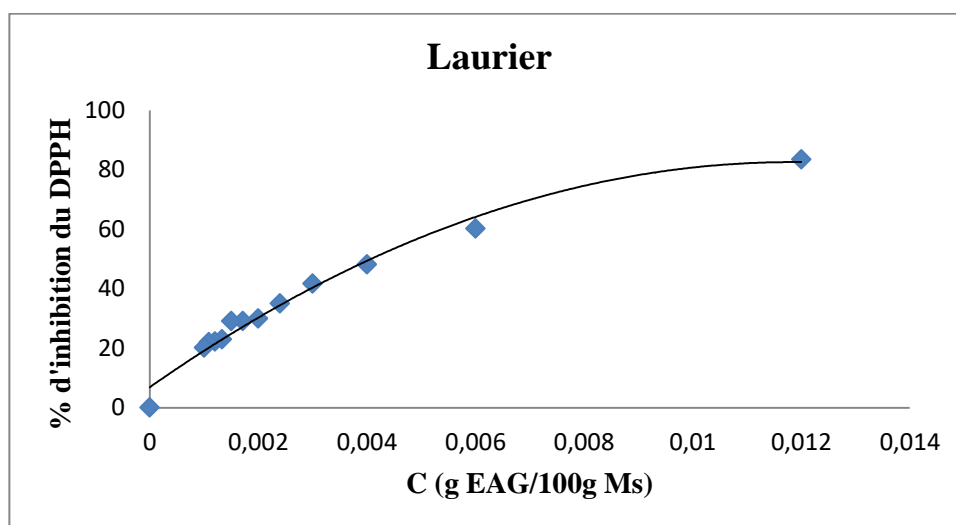


Figure 26 : Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de l'extrait de Laurier en g EAG/100g MS,

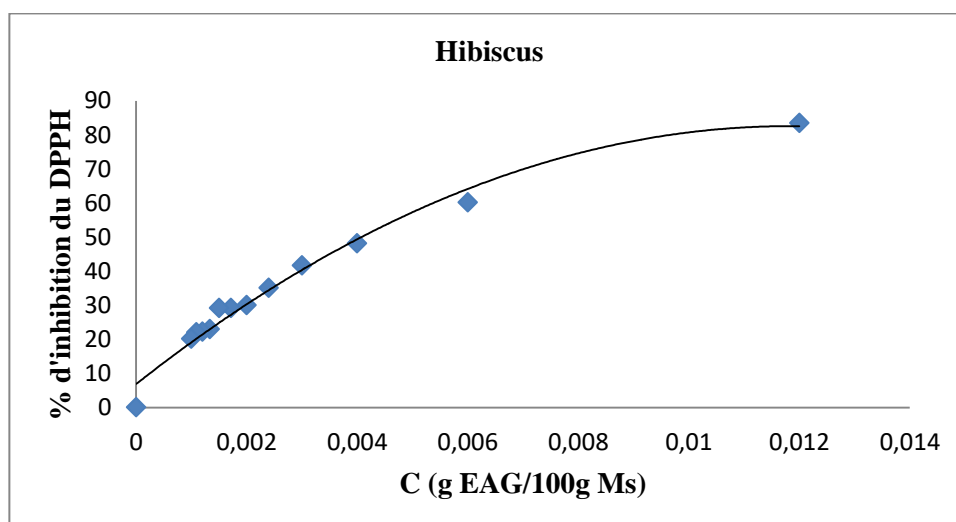


Figure 27 : Représentations graphiques de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH° en fonction des concentrations de l'extrait de Hibiscus en g EAG/100g MS,

D'après les résultats obtenus dans les deux figures 25 et 26, nous avons enregistré une augmentation des pourcentages d'inhibition de DPPH° en fonction des concentrations des extraits étudiés.

3.4.2. Détermination d'IC50 :

L'IC50 est la concentration des PT qui neutralise (réduit) 50% du radical libre (DPPH). Il est inversement proportionnel à la capacité antioxydant d'un composé, parce qu'il exprime la quantité antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les valeurs d'IC50 pour les différents extraits sont indiquées sur la figure 28.

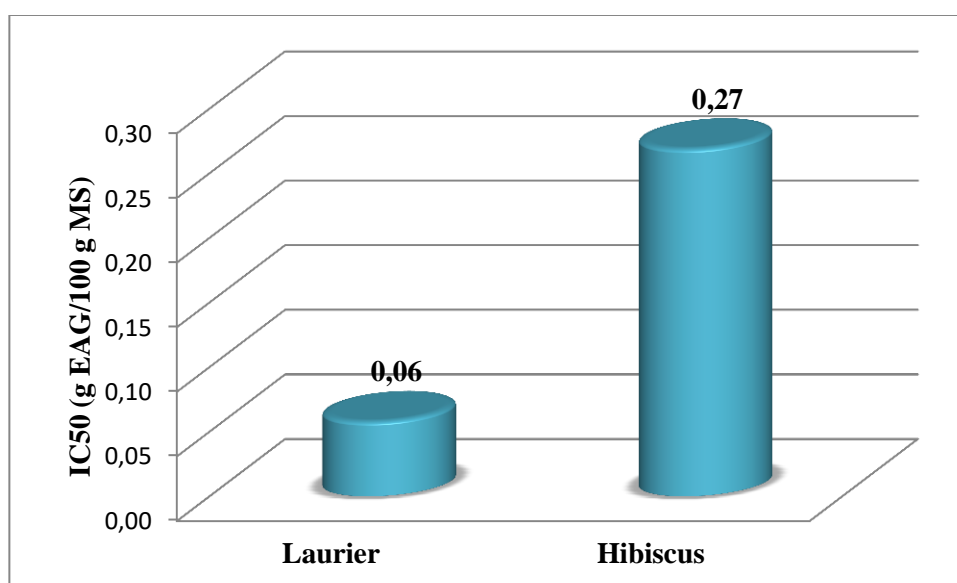


Figure 28 : Les IC50 des différents extraits

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante par DPPH ont montré que le laurier possède une capacité antioxydante plus importante que l'hibiscus d'une valeur de **0,06 g EAG/100 g MS** pour le laurier et **0,27 g EAG/100 g MS** pour l'hibiscus.

- 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 créatrices des ions métalliques. [61]

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail est consacré à l'étude des extraits de deux plantes, riches en composés phénoliques. Les plans d'expériences ont été choisis pour modéliser, optimiser et étudier l'influence de trois facteurs : la concentration massique ($C_m : X_1$) qui représente la masse de la matière sèche de la plante par unité de volume d'eau, la température ($T : X_2$) et le temps ($t : X_3$) sur le processus d'extraction par infusion des teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux.

Les modèles valides de premier et second degré retenus pour modéliser l'extraction des PT et FT des plantes (laurier et l'hibiscus) étudiées sont :

- Dans les extraits des feuilles de laurier

$$TPT = 0,3575 - 0,4103X_1 + 0,0709X_2 \quad \text{avec } X_1 \text{ et } X_2 \text{ appartenant à l'intervalle } [-1 ; +1].$$

$$TPT = 4,2212 - 0,379X_1 + 0,1538X_2 + 0,537 X_1^2 + 0,0766X_2^2 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1,68 ; +1,68]).$$

$$TFT = 0,3352 - 0,0435X_1 ; (X_1 \text{ et } X_2 \text{ appartiennent à l'intervalle } [-1 ; +1]).$$

$$TFT = 0,1985 - 0,0583X_1 - 0,0146X_3 + 0,0606X_1^2 + 0,0455X_2^2 + 0,0402X_3^2 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1,68 ; +1,68]).$$

- Dans les extraits des fleurs d'hibiscus (1^{ère} matrice) :

$$TPT = 2,7465 - 0,1378X_1 + 0,154X_2 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1 ; +1]).$$

$$TPT = 2,7196 - 0,1289X_1 + 0,1257X_2 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1,68 ; +1,68]).$$

$$TFT = 0,3978 - 0,0633X_1 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1 ; +1]).$$

$$TFT = 0,379 - 0,069X_1 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1,68 ; +1,68]).$$

- Dans les extraits des fleurs d'hibiscus (2^{ème} matrice)

$$TPT = 3,1244 - 0,0524X_1 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1 ; +1]).$$

$$TFT = 0,9002 - 0,3088X_1 - 0,0867X_3 ; (X_1 \text{ et } X_2 \in [-1 ; +1]).$$

Nous constatons que les facteurs étudiés ont des niveaux d'influences différents sur l'extraction des PT et FT lors de l'infusion des plantes. Dans les intervalles des facteurs étudiés, le facteur X_1 (concentration massique de la matière sèche de plante dans l'eau d'infusion) influe négativement sur l'extraction des PT et des FT. Le facteur X_2 (température d'infusion) influe positivement sur les teneurs des PT et FT des extraits de laurier et de l'hibiscus, alors qu'en général, le facteur X_3 (temps d'infusion) n'a pas d'influence sur les teneurs des PT et FT des extraits des plantes étudiées.

Les résultats d'optimisation des facteurs d'extraction étudiés sont comme suit :

➤ Laurier

$C_m = 0,04 \text{ g MS/mL eau}$; $T = 90 \text{ °C}$; $t = 10 \text{ min}$ pour la réponse TPT ;

$C_m = 0,04 \text{ g MS/mL eau}$; $T = 90 \text{ °C}$; $t = 2 \text{ min}$ pour la réponse TFT

➤ Hibiscus

$C_m = 0,04 \text{ g MS/mL eau}$; $T = 90 \text{ °C}$ pour la réponse TPT ;

$C_m = 0,02 \text{ g MS/mL eau}$; $T = 78 \text{ °C}$; $t = 8 \text{ min}$ pour la réponse TFT.

Nous avons constaté d'après les résultats des dosages des PT et FT, que les extraits d'infusion du laurier sont plus riches que ceux de l'hibiscus en polyphénols totaux, par contre en flavonoïdes totaux, les extraits d'infusion de l'hibiscus sont plus riches que ceux du laurier.

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante par DPPH ont montré que le laurier possède une capacité antioxydante plus importante que l'hibiscus avec des valeurs de l'IC50 de 0,06 g EAG/100 g MS pour le laurier et une valeur égale à 0,27 g EAG/100 g MS.

Nous pouvons conclure que l'activité antioxydante n'est pas proportionnelle à la teneur en flavonoïdes totaux, mais qu'elle est peut être proportionnelle à une autre catégorie de polyphénols.

Références bibliographique

Références bibliographiques

- [1] Xin Liu, Guanghong Luo, Lijuan Wang, Wenqiao Yu (2019), « Optimization of antioxidant extraction from edible brown alga *Ascophyllum* using response surface methodology » *Food and Bioprocess Technology* 14, 205-215.
- [2] Amani BOULEGROUN et Roumila ARDJOUN (2019) « Evaluation de l'effet antioxydant de deux plantes endémiques en Algérie : *Thymus algeriensis* de Ain-defla et *Lavandula antineae* de Beskra.
- [3] <http://www.soliplanta.fr/category/herbes/>
- [4] BELOUED A. (2001), *Plantes médicinales d'Algérie*. Office des publications universitaires. Alger, p124.
- [5] www.futura-sciences.com
- [6] STEVEN P.S, (2001). « AngiospermPhylogenyWebsite »
- [7] HADDADI Imane, 2021 « Caractérisation et valorisation de quelques populations de Laurier noble du Nord Algérien »
- [8] *Encyclopedie bordas nature*, (1999). Tome: 7. Pp: 211.
- [9] Geerts P, Rammeloo J, Van Cauteren G, Et Al. *Laurusnobilis : le livre du laurier*. Gand: Ed. Ludion ; 2002. 131 p.
- [10] OuldYerou K., Meddah B., TirTouil A. 2015. Etude de l'effet d'huile essentielle de laurier noble de l'Ouest algérien sur salmonella spp. In vitro et in vivo. *European Scientific Journal*. 11 :33 pp 311-318.
- [11] Bruneton J. (1999) - *Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales*. Ed. Tec
- [12] Iserin P., (2001). *Encyclopédie des plantes médicinales*, Tome 2. Ed. Larousse. Londres. 143- 225-226p
- [13] Ipor I.B & Oyen L.P.A (2016). *Laurusnobilis (PROSEA)*, *Plant Resources Of South-East*
- [14] [https://uses.plantnet-project.org/fr/Hibiscus_sabdariffa_\(PROTA\)](https://uses.plantnet-project.org/fr/Hibiscus_sabdariffa_(PROTA))
- [15] BAHAELEEN Babiker Mohamed., *et al.* Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Sudan , Cultivation and Their Uses. National Centre for Research (NCR), Dept. Of Crop Production and Biodiversity, Khartoum, Sudan. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, May 2012, vol.1, p. 48-59 (Online ISSN 2277 – 1808).

- [16] V.H.Shruthi.,*etal.* ROSELLE (HIBICUSSABDARIFFAL.) ASA SOURCE OF NATURAL COLOUR, 2016, vol16, N°2, p. 515-522(ISSN0972-5210).
- [17] MADY,Cisse.,*etal.*Lebissap(*Hibiscussabdariffa*L.):Composition et principales utilisations ,*Fruits*, 2009,vol.64,p.179–193.
- [18] [https:// www.lalanguefrancaise.com/dictionnaire/definition/karkade](https://www.lalanguefrancaise.com/dictionnaire/definition/karkade)
- [19] ENDRIAS,Abraham.Bio raffinage de plantes aromatiques et médicinales appliqué à *l'Hibiscus sabdariffa*L. et à *l'Artemisiaannua*. Thèse de doctorat :Science des Procédés ,Sciences des Agro ressources. Toulouse: Institut National Polytechniques,2006,p.41-50.
- [20] https://www.memoireonline.com/04/22/12942/m_Etude-de-levolution-des-parametres-physicochimiques-lors-de-la-fermentation-alcoolique-et-produ3.html
- [21] Hopkins, 2003 ; Lugasiet al., 2003 ; Lebham, 2005
- [22] (Macheix et al. 2005),
- [23] (Bruton, 1993).
- [24] (Adrien et Franny, 1991 ; Milane, 2004).
- [25] Fleuriet A., Jay-Allemand C., Macheix J.J., 2005. Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes pp 121-216.
- [26] François Muanda Nsemi. Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Biologie végétale. Université Paul Verlaine - Metz, 2010. Français.
- [27] Lemieux G., Germain D., 2002. Le Bois Rameal Fragmenté: la clé de la fertilité durable du sol. Ed. Groupe de coordination sur les bois Rameaux, Université Laval.
- [28] <https://www.fondation-louisbonduelle.org/nutriment/polyphenols/>
- [29] (Lugasi et al., 2003).
- [30] (Beta et al. 2005).
- [31] LABBANI 2021-2022L3-BPV-FSNV/UFMC Biochimie végétale / Chp 4: Composés phénoliques.

- [32] Psotová et al., 2003
- [33] [https:// www.espritsante.com/articles/acide-phenolique](https://www.espritsante.com/articles/acide-phenolique)
- [34] (Cowan, 1999).
- [35] Berthod et al., 1999
- [36] (Athamena S., 2009). [37](Gamet-Payrastre. *et al*, 1999).
- [37] [https:// www.ponroy.com/plantes/les-flavonoides](https://www.ponroy.com/plantes/les-flavonoides)
- [38] (Bendif, 2017).
- [39] Zohra MOHAMMEDI ; Stress oxydatif, radicaux libres et antioxydants
- [40] Techniques d'extraction, de purification et de conservation Présenté par Dr.BENABDALLAH Hassiba
- [41] <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-spectrophotometrie-15118/>
- [42] <https://www.futura-sciences.com/sciences/definitions/chimie-spectrophotometrie-15118/>
- [43] YAHIAOUI (2013). « Dégradation de composés organiques récalcitrants (phénol, Colorants et antibiotiques) par oxydation électrochimique direct sur électrode de plomb Couplée à un traitement biologique ». Thèse de doctorat, université de Bejaia.
- [44] D. AMOURA (2011). « Modélisation d'un réacteur à lit fixe par la méthode des plans D'expériences ». Application à la cémentation du cuivre par la poudre de zinc, mémoire deMagister, Université Abderrahmane MIRA Bejaia.
- [45] J.GOUPI (1990). « Etude comparative de divers plans d'expériences ». Revue Statistique appliquée, tome, P 5-44.
- [46] N. Hamaidi Née Maouche (2012). « Modélisation Optimisation du Procédé D'adsorption du Phénol dans un Réacteur Batch par les Plans D'expériences ». Thèse deDoctorat en Sciences.
- [47] G. Sado, M. Sado. « Les plans d'expériences, de l'expérimentation à la qualité» . EdAFRNOR (1991).
- [48] REDHEAD J., 1990. Utilisation des aliments tropicaux: sucres, épices et

stimulants organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, p19-20.

- [49] Yahiaoui, F. Aissani –Benissad (2010). « Experimental design for Copper Cementation process in fixed bed reactor using two-level factorial design. Arabian » Journal of Chemistry, p187-190.
- [50] DRONIOU CASSARO (2012). Les épices .les symposiarques. p1-6.
- [51] F. Gillon. (1997). « Modélisation et optimisation par plans d'expériences un moteur a communications électroniques ». Thèse de doctorat, université de Lille France.
- [52] F. RABIER (2007). « Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire ». Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- [53] F.Oughlis-Hammache, N.Hamaidi –Maouche, F.Aissani-Benissad, and S.Bourouina-Bacha (2010). Central Composite Design for the modeling of the Phenol Adsorption Process in Fixed –Bed Reactor .Journal of Chemical & Engineering Data 552489-2494.
- [54] ACHAT SABIHA (2013). Polyphénols de l'alimentation Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A.MIRA –Bejaia
- [55] (Popova et coll., 2004)
- [56] Cavar S. Maksimovic M, Vidic D. Paris A. (2009). Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. From Bosnia. Industrial Crops and Products. P479-485.
- [57] Gadaw, A. V, Joubert, and Hansmann (1997). Comparaison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α - Tocopherol, BHT, and BHA. Journal of Agricultural Food Chemistry. P 632-638.
- [58] Kroyer G.T (2003). Red clover extract as antioxidant active and functional foodingredient innovative. Food Science and Emerging Technologies.
- [59] Mansouri A, Embarek G, Kokkalou E. and Kefalas P. (2005). Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry 411– 420.
- [60] T H È S E Pour obtenir le grade de DOCTEUR DE MONTPELLIER SUPAGRO ; Présentée et soutenue publiquement Par Mady CISSE Le 17 décembre 2010

- [61] Burits M, Bucar F (2000). « Phytotherapy Research » p323-328.

Résumé

La modélisation et l'optimisation par les plans d'expériences de l'infusion du Laurier et de L'hibiscus nous a permis de déterminer l'influence de trois facteurs d'extraction à savoir : La température, le temps et la concentration massique de la poudre sèche de ces plantes dans l'eau en utilisant comme réponse les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux. Une étude comparative des extraits des feuilles de laurier et des fleurs de l'hibiscus a été effectuée par rapport à l'activité antioxydante, et les teneurs en PT et FT.

Les résultats obtenus sont comme suit :

- Influence des trois facteurs étudiés sur l'extraction des PT et FT.
- Présence des polyphénols et flavonoïdes dans tous les extraits à des teneurs différentes.
- Les extraits obtenus présentent une activité antioxydante importante.

Summary

The modeling and the optimization by the plans of experiments of the infusion of the Laurel and the hibiscus allowed us to determine the influence of three factors of extraction namely: The temperature, the time and the mass concentration of the dry powder of these plants in water using as an answer the contents of total polyphenols and total flavonoids. A comparative study of the extracts of bay leaves and hibiscus flowers was carried out in relation to the antioxidant activity, and the contents of PT and FT.

The results obtained are as follows:

- Influence of the three factors studied on the extraction of PT and FT.
- Presence of polyphenols and flavonoids in all the extracts at different levels.
- The extracts obtained show significant antioxidant activity.