

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE  
جامعة عمار تليدي بالأغواط  
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT  
كلية العلوم  
FACULTE DES SCIENCES  
قسم علوم المادة  
DEPARTEMENT Sciences de la Matière



## ***Mémoire de Master***

**Domaine : Sciences de la Matière**  
**Filière : Chimie**  
**Option : Chimie Organique Appliquée**

**Par :**  
**Messeguem Mohammed Elamine**

### **THEME**

---

**Etude des conditions d'extraction des polyphénols des fleurs de  
*Chamomilla pubescens* par un plan d'expérience**

---

*Soutenu publiquement devant le jury composé de :*

Mr. YOUSFI Mohammed	Pr	Président
Mr. BELHADI Badreddine	MCA	Examineur
Mr . BAKHTI koriba	MAA	Examineur
Mr. BENAHMED Ziyad	Pr	Encadreur
Mr. CHEGMATaha	Doc	Encadreur

**Année Universitaire 2022/2023**

## Remerciements

Avant toute chose, nous remercions

Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force et la patience pour achever ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur « BEN AHMED ZIYAD » Professeur à la faculté des sciences, Université AMAR TELIDJI LAGHOUAT, d'avoir accepté de m'encadrer, je le remercie pour sa disponibilité et son aide tout au long de ce modeste travail, qu'il trouve ici toutes ma gratitude.

Je tiens à remercier a monsieur «CHEGMA TAHA » encadreur pour m'avoir donné son aide dans ce travail.

Nos remerciements vont aussi à Mr. MOHAMMED YOUSFI d'avoir accepté de présider le jury de notre soutenance de mémoire.

Je remercie également Mr. BELHADI BADREDDINE et Mr. BAKHTI KORIBA d'avoir acceptés de juger ce travail .

Ce travail de mémoire s'est déroulé au laboratoire de recherches des sciences fondamentales à l'université Amar Telidji -Laghout, Pour cela je remercie son directeur, le professeur MOHAMMED YOUSFI et les doctorants pour l'accueil et aide

Enfin je remercie tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

## Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon

Très chère père LAHBIB

Qui m'a toujours soutenu, et qu'a été

Toujours présent pour moi

A la plus chère au monde,

Ma mère AICHA qui m'a

Toujours m'encouragé durant mes études

A toutes mes sœurs

A mon frère

A toute ma famille

A tout mes amis et amies

A tous ceux qui m'ont soutenu

# Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

INTRODUCTION.....	1
I. RECHERCHE BIBLIOGRAPHIQUE .....	2
I.1 INTRODUCTION.....	2
I.2 EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES .....	3
I.3 METHODOLOGIE DES PLANS D'EXPERIENCES.....	4
I.3.1 Principe.....	4
I.3.2 Terminologie.....	4
I.3.3 Facteur.....	5
I.3.4 Réponse.....	5
I.3.5 Espace expérimental.....	5
I.3.6 Domaine d'étude.....	6
I.3.7 Recherche des facteurs influents .....	7
I.3.8 Modélisation .....	7
I.3.9 Optimisation.....	7
I.3.10 Plan de Box-Behnken à trois facteurs.....	7
I.3.10.1 Définition du plan de Box- Behnken .....	7
I.3.10.2 Description du plan .....	7
I.3.10.3 Modèle mathématique postulé.....	9
I.3.10.4 Le modèle de l'expérimentateur.....	9
II. MATERIELS ET METHODES.....	11
II.1 PLANTE ETUDIEE.....	11
II.1.1 Appellations Nom latin :.....	11
II.1.2 Noms vernaculaires :.....	11
II.1.3 Classification :.....	11
II.1.4 Description :.....	11
II.1.5 Habitat :.....	11
II.1.6 Répartition :.....	12
II.1.7 Préparation des échantillons.....	12
II.2 OPTIMISATION DES PARAMETRES D'EXTRACTION DES CPT PAR ULTRASON.....	12
II.2.1 Etudes préliminaires.....	12
II.2.1.1 Temps d'extraction.....	13
II.2.1.2 Volume du solvant.....	13
II.2.1.3 Température d'extraction.....	13
II.2.2 Dosage des polyphénols totaux:.....	13
II.2.2.1 Mode opératoire.....	13
II.2.2.2 Expression des résultats.....	13
II.2.3 Activité anti-radicalaire (DPPH):.....	14
II.2.3.1 Mode opératoire.....	14
II.2.4 Test d'ABTS.....	14

II.2.4.1	Mode opératoire.....	15
II.2.5	Matrice d'expériences.....	15
II.3	ANALYSE STATISTIQUE.....	15
III.	RESULTATS ET DISCUSSION.....	17
III.1	EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR ULTRASON.....	17
III.1.1	Extraction par ultrason.....	17
III.1.2	Etudes préliminaires.....	17
III.1.2.1	Effet de différents temps d'extraction.....	17
III.1.2.2	Effet de rapport (masse /volume).....	18
III.1.2.3	Effet de température.....	19
III.2	OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION DES CPT PAR ULTRASONS.....	20
III.2.1	Plan d'expérience Box-Behnken(BBD).....	21
III.2.2	Validation du modèle de CPT.....	22
III.2.3	Coefficient de détermination ( $R^2$ ) de CPT.....	23
III.2.4	Effet des facteurs (coefficients).....	24
III.2.5	Analyse du modèle mathématique.....	25
III.2.6	Effet linéaire.....	25
III.2.7	Effet quadratique.....	25
III.2.8	Analyse des surfaces de réponse.....	26
III.2.8.1	Temps-Volume.....	26
III.2.8.2	Volume-température.....	27
III.2.8.3	Température- temps.....	28
III.2.9	Paramètres optimaux.....	29
III.3	TEST D'EVALUATION D'ACTIVITE ANTIOXYDANTE.....	29
III.3.1	Activité anti-radicalaire (DPPH).....	29
III.3.1.1	Coefficient de corrélation :.....	30
III.3.1.2	Effet des facteurs (coefficients) :.....	31
III.3.1.3	Analyse du modèle mathématique :.....	31
III.3.1.4	Effet linéaire :.....	31
III.3.1.5	Effet quadratique.....	32
III.3.1.6	Analyse des surfaces de réponse :.....	32
III.3.1.7	Solution :.....	35
III.3.2	Test d'ABTS :.....	35
III.3.2.1	Coefficient de corrélation :.....	36
III.3.2.2	Effet des facteurs (coefficients) :.....	37
III.3.2.3	Analyse du modèle mathématique :.....	37
III.3.2.4	Effet quadratique :.....	37
III.3.2.5	Analyse des surfaces de réponse :.....	38
III.3.2.6	Solution :.....	40
IV.	CONCLUSION :.....	41

Annexes

Référence

## Liste des figures

Figure 1	L'ENSEMBLE DES REPONSES QUI CORRESPOND A TOUS LES POINTS DU DOMAINE D'ETUDE FORME LA SURFACE DE REPONSE.	5
Figure 2	REPRESENTATION GRAPHIQUE D'UN DOMAINE DU FACTEUR	6
Figure 3	LE DOMAINE D'ETUDE DEFINI PAR LA REUNION DES DOMAINES DES DIFFERENTS FACTEURS	6
Figure 4	REPRESENTATION SCHEMATIQUE D'UN DOMAINE D'ETUDE.	6
Figure 5	ILLUSTRATION DU PLAN DE BOX-BEHNKEN POUR TROIS FACTEURS.	8
Figure 6	DEPRESSION (REGION DE GHARDAÏA): MAI 2002 [28].	11
Figure 7	LES FLEURS DE <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> APRES BROYAGE.	12
Figure 8	EFFET DE DIFFERENTS TEMPS D'EXTRACTION SUR LES CPT.	18
Figure 9	EFFET VOLUME SUR L'EXTRACTION DES CPT.	19
Figure 10	EFFET TEMPERATURE SUR L'EXTRACTION DES CPT.	20
Figure 11	GRAPHIQUE DES VALEURS OBSERVEES CPT EN FONCTION DES VALEURS PREVUES.	23
Figure 12	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS TEMPS /VOLUME SUR LE RENDEMENT DES COMPOSES PHENOLIQUE DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	27
Figure 13	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS VOLUME /TEMPERATURE SUR LE RENDEMENT DES COMPOSES PHENOLIQUE DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	28
Figure 14	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS TEMPS /TEMPERATURE SUR LE RENDEMENT DES COMPOSES PHENOLIQUE DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	29
Figure 15	GRAPHIQUE DES VALEURS OBSERVEES DPPH EN FONCTION DES VALEURS PREVUES.	30
Figure 16	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS TEMPS /VOLUME SUR L'ACTIVITE ANTI-RADICALAIRE DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	33
Figure 17	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS TEMPS /TEMPERATURE SUR L'ACTIVITE ANTI-RADICALAIRE DPPH DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	34
Figure 18	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS VOLUME /TEMPERATURE SUR L'ACTIVITE ANTI-RADICALAIRE DPPH DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	35
Figure 19	GRAPHIQUE DES VALEURS OBSERVEES ABTS EN FONCTION DES VALEURS PREVUES.	36
Figure 20	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS TEMPS /VOLUME SUR L'ACTIVITE ANTI-ABTS DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	38
Figure 21	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS TEMPS /TEMPERATURE SUR L'ACTIVITE ANTI-ABTS DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	39
Figure 22	SURFACE DE REPONSE POUR LES EFFETS VOLUME /TEMPERATURE SUR L'ACTIVITE ANTI-ABTS DU <i>CHAMOMILLA PUBESCENS</i> .	40

## Liste des tableaux

Tableau 1	MATRICE D'EXPERIENCES POUR UN PLAN DE BOX-BEHNKEN POUR 3 FACTEURS.	10
Tableau 2	LES DOMAINES EXPERIMENTAUX DES FACTEURS ETUDIES DANS L'OPTIMISATION DES COMPOSES PHENOLIQUES DU CHAMOMILLA PUBESCENS.	21
Tableau 3	LA MATRICE EXPERIMENTALE DE BOX-BEHNKEN POUR TROIS FACTEURS (X1, X2 ET X3) ET LEURS REponses CPT, DPPH ET ABTS EXPRIME EN (MG/G DE MV)	22
Tableau 4	L'ANALYSE DE LA VARIANCE DES MODELES POLYNOMIAUX DE SECOND ORDRE	24
Tableau 5	COEFFICIENTS DE REGRESSION ET LEURS SIGNIFICATIONS STATISTIQUES.	24
Tableau 6	CONDITIONS OPTIMALES D'EXTRACTION DES COMPOSES PHENOLIQUES PAR ULTRASON (MG EAG/G MV)	29
Tableau 7	LES COEFFICIENTS DE REGRESSION ESTIMES DU MODEL POLYNOMIAL DU SECOND DEGRE.	31
Tableau 8	CONDITIONS OPTIMALES DE L'ACTIVITE ANTIRADICALAIRE DPPH PAR ULTRASON (MG EAAC/G DE MV).	35
Tableau 9	COEFFICIENTS DE REGRESSION ESTIMES DU MODEL POLYNOMIAL DU SECOND DEGRE.	37
Tableau 10	CONDITIONS OPTIMALES DE L'ACTIVITE ANTI-ABTSPAR ULTRASON (MG EAAC/G DE MV).	40

## Liste des abréviations

ABTS : Acide 2,2'-azinobis-(3-éthylbenzothiazoline-6-sulfonique)

ANOVA : Analyse de variance

BBD: Plan de Box Behnken design

CPT: Compose phénolique totaux

DPPH : 1,1-Diphényl-2-Pyridylhydrazyl

EAAC : Equivalents d'acide ascorbique

EAG : Equivalente acide gallique

K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> : Persulfate de potassium

MV : Matière végétal

MS : Matière Sèche

MSR : La méthodologie des surfaces de réponse

OVAT : Un facteur à la fois

R<sup>2</sup> :Le coefficient de détermination

R<sup>2</sup>ajusté : Le coefficient de détermination ajusté

UAE : L'extraction assistée par ultrasons

# **Introduction générale**

### **Introduction**

L'utilisation des plantes médicinales pour prévenir et traiter les affections courantes et récurrentes a suscité un grand intérêt [1]. Les procédés d'extraction jouent un rôle essentiel dans l'étude des plantes médicinales, et aujourd'hui, il existe un large éventail de technologies et de méthodes d'extraction disponibles. Tant les méthodes traditionnelles, utilisées depuis longtemps, que les méthodes modernes, développées récemment, sont utilisées dans ce domaine. Les méthodes d'extraction traditionnelles impliquent l'utilisation de solvants et nécessitent des temps d'extraction prolongés, ce qui contraste avec les méthodes d'extraction contemporaines qui sont également utilisées pour extraire des produits naturels. Les méthodes d'extraction modernes sont complexes, difficiles d'accès et coûteuses [1].

En raison des températures élevées et des temps d'extraction prolongés, les méthodes d'extraction conventionnelles et modernes par solvant peuvent entraîner la dégradation des composés actifs [2]. Les plantes contiennent une variété de composés chimiques, tels que des alcaloïdes, des stéroïdes, des tanins, des glycosides, des huiles volatiles et fixes, des résines, des phénols et des flavonoïdes, qui se trouvent principalement dans leurs parties distinctes, telles que les feuilles, les fleurs, les grains, les fruits et les racines.

Les méthodes traditionnelles et modernes prennent souvent beaucoup de temps car elles ne tiennent compte que d'un seul facteur. Ces méthodes ne prennent pas en compte les interactions entre plusieurs facteurs, ce qui réduit la probabilité d'obtenir les conditions idéales réelles. Pour surmonter ces problèmes, l'optimisation des procédures analytiques est réalisée à l'aide de techniques multivariées telles que la méthodologie des surfaces de réponse (MSR). La MSR est une technique de modélisation permettant d'optimiser une réponse spécifique, telle que la production d'un extrait avec un rendement maximal en phénols, en utilisant des données provenant de plusieurs tests qui modifient simultanément plusieurs facteurs. Un modèle est construit pour représenter la relation entre la réponse et les variables qui ont été modifiées lors de nombreuses expériences, et ce modèle représente une surface de réponse dans le domaine expérimental considéré [3].

Dans notre étude, nous avons cherché à optimiser les conditions d'extraction assistée par ultrasons des composés phénoliques des fleurs de *Chamomilla pubescens* en utilisant la méthode MSR, afin d'évaluer l'effet de différents paramètres expérimentaux tels que le volume, le temps et la température sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante.

# **Recherche bibliographique**

## **I. Recherche bibliographique**

### **I.1 Introduction**

L'optimisation vise à améliorer les performances d'un système, d'un processus ou d'un produit afin d'en tirer le bénéfice maximal. Le terme "optimisation" est largement utilisé en chimie analytique pour déterminer les conditions optimales d'une procédure afin d'obtenir les meilleures réponses possibles[4]. Traditionnellement, en chimie analytique, l'optimisation se faisait en évaluant l'influence d'un facteur à la fois sur une réponse expérimentale, tandis que tous les autres facteurs étaient maintenus constants. Cette approche d'optimisation, appelée approche unifactorielle, présente toutefois un inconvénient majeur, à savoir qu'elle ne tient généralement pas compte des effets d'interaction entre les variables étudiées. Par conséquent, cette technique ne permet pas toujours de représenter pleinement l'effet des paramètres sur la réponse et ne conduit pas toujours à l'obtention de l'optimum global[5]. Un autre inconvénient de l'optimisation unifactorielle réside dans l'augmentation du nombre d'expériences nécessaires pour trouver l'optimum (surtout lorsque le nombre de facteurs augmente), ce qui entraîne une augmentation du temps et des coûts, ainsi qu'une augmentation de la consommation de réactifs et de matériaux.

Les composés phénoliques présents dans la plante *Chamomilla pubescens* sont peu connus, et les activités observées dépendent de la composition des extraits ainsi que des conditions du système de test[6].

L'extraction joue un rôle crucial dans l'isolement et l'identification potentielle des composés phénoliques. Ainsi, de nombreux chercheurs ont étudié l'impact de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction de ces composés à partir de sources naturelles[7, 8]. Cependant, il n'existe toujours pas de procédure normalisée permettant d'extraire simultanément tous les phénols. Par conséquent, il est nécessaire de mener des recherches systématiques pour déterminer les phénols présents dans les aliments [9].

Le processus de développement, de conception et d'optimisation des procédés d'extraction comprend plusieurs étapes bien connues. La sélection du solvant d'extraction approprié, le degré de fragmentation du matériau végétal, le rapport entre le matériau végétal et le solvant, la température et l'intensité de l'agitation sont généralement les premières étapes importantes visant à déterminer les conditions de fonctionnement optimales pour l'extraction d'un matériau végétal spécifique. Ainsi, il est important de comprendre l'influence des différents facteurs sur ce processus [10]. Une approche systématique pour acquérir ces connaissances consiste à

utiliser la méthode des plans d'expérience et la méthodologie de surface de réponse (MSR). Lorsqu'il est possible d'identifier de nombreux facteurs potentiellement importants dans l'extraction, les plus significatifs sont déterminés après la réalisation d'un plan de criblage. Ensuite, ces facteurs clés sont optimisés à l'aide d'un plan de surface de réponse, et les réponses obtenues sont modélisées pour construire des surfaces de réponse permettant de déterminer les conditions optimales.

### **I.2 Extraction des composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires des plantes principalement connus pour leurs propriétés antioxydantes. Caractérisés par la présence d'un ou plusieurs groupements phénoliques dans leur structure. Ils sont divisés en plusieurs groupes en fonction de la composition de leur squelette carbonaté. Les groupements acides phénoliques (C6-C1 ou C6-C3) et particulièrement les flavonoïdes (C6-C3-C6) sont les plus fréquemment retrouvés dans les aliments d'origine végétale et les tanins. Et sont principalement stockés dans les vacuoles des plantes et sont couramment extraits à l'aide de solvants organiques. La nature des composés phénoliques dans un extrait dépend des composés chimiques présents dans la plante et de la méthode d'extraction utilisée.

L'extraction peut être réalisée à partir de matériel séché ou frais. L'extraction par solvant est la technique la plus fréquemment utilisée pour l'isolement et la séparation des composés phénoliques antioxydants la plante *Chamomilla pubescens*.

L'extraction est un processus conçu pour séparer les composés solubles de la matrice solide vers une matrice liquide. Ce processus se déroule en deux étapes : l'adsorption du solvant à la phase solide par des forces osmotiques, des forces capillaires et la solvation des ions dans les cellules, puis la diffusion à partir de la phase solide [11]. La technique d'extraction utilisée et sa méthodologie déterminent la composition de l'extrait phénolique et son efficacité antioxydante. Il est généralement admis que le rendement de l'extraction phénolique dépend du type et de la polarité des solvants, du temps et de la température d'extraction, du rapport échantillon-solvant, ainsi que de leur propre composition chimique et de leurs caractéristiques physiques [12]. De plus, la composition chimique d'un extrait phénolique peut également être associée à d'autres composants de la plante. Ainsi, l'extrait végétal peut également contenir d'autres substances non phénoliques, telles que des glucides, des protéines, des acides organiques et des lipides. Par conséquent, des étapes supplémentaires peuvent être nécessaires pour éliminer ces composants indésirables.

L'eau, l'éthanol, le méthanol, l'acétone et des mélanges de solvants avec différentes proportions d'eau sont fréquemment utilisés pour extraire les composés phénoliques des plantes[13] . Avant l'application du solvant, les échantillons végétaux sont traités par broyage et homogénéisation, car des rendements d'extraction plus élevés (de phénols) sont obtenus à partir de particules plus petites [14]. Le méthanol est généralement considéré comme plus efficace dans l'extraction des polyphénols de poids moléculaire plus faible, tandis que les flavanols de poids moléculaire plus élevé sont mieux extraits avec un mélange aqueux d'acétone. L'éthanol est un autre solvant largement utilisé pour l'extraction de polyphénols car il est relativement sûr pour la santé humaine[13] .

L'extraction des composés phénoliques à partir de matériel végétal est également influencée par le temps et la température d'exposition de l'échantillon végétal au solvant. Le temps d'extraction et la température peuvent entraîner des actions contradictoires de solubilité et de dégradation phénolique par oxydation [13].

### **I.3 Méthodologie des plans d'expériences**

Dans toutes les disciplines, il est fréquent d'étudier un phénomène dépendant de différents paramètres. La méthode intuitive n'est pas toujours la meilleure et qui consiste généralement à fixer le niveau de toutes les variables sauf une et de mesurer la réponse pour plusieurs valeurs de la variable mobile.

#### **I.3.1 Principe**

Un plan d'expérience consiste en la mise en œuvre organisée d'un ensemble d'unités expérimentales de manière à révéler les effets de différents traitements, tel que comparer les effets de quatre antibiotiques sur une souche bactérienne [15].

La méthode d'expérimentation choisie doit faciliter l'interprétation des résultats, et minimiser le nombre des essais sans toutefois sacrifier la qualité.

La théorie des plans d'expériences assure les conditions pour lesquelles la meilleure précision possible avec le minimum d'essais sont obtenus, afin d'avoir le maximum d'efficacité avec le minimum d'expériences et par conséquent le coût minimum [15].

#### **I.3.2 Terminologie**

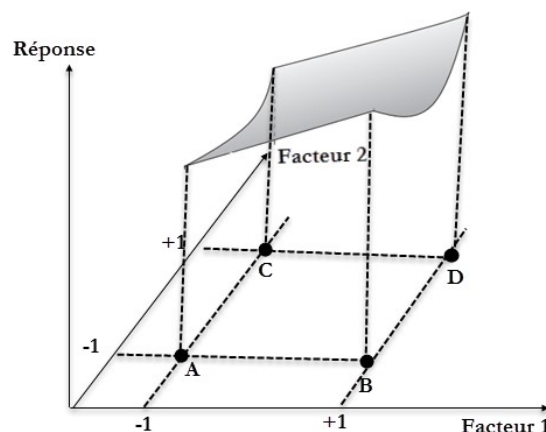
Avant d'entamer l'élaboration du plan d'expérience, la connaissance d'une certaine terminologie qui lui est associée revêt une importance primordiale :

### **I.3.3 Facteur**

On appelle facteur un ensemble de traitements de « même nature » liés par une similitude logique et mutuellement exclusif. Ces différents traitements sont nommés modalités ou encore niveaux[16]. Les facteurs peuvent être quantitatifs, lorsqu'ils sont naturellement exprimés à l'aide de valeurs numériques (pression, température, durée, etc.) ou être qualitatifs dans le cas contraire (couleur, type de matériau, sexe, etc.) La variation de facteur entraîne le changement de niveau. La connaissance de l'ensemble de tous les niveaux utilisés par chaque facteur est nécessaire pour la réalisation des expériences [16].

### **I.3.4 Réponse**

La réponse de facteur, est la grandeur observée pour chaque expérience réalisée, qui doit être numérique et prise une seule fois au cours d'une observation [17].



**Figure 1:** L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étude forme la surface de réponse.

### **I.3.5 Espace expérimental**

Le domaine de variation du facteur ou le domaine du facteur est l'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre un facteur entre les niveaux bas et haut. Par convention, le niveau bas est souvent noté par (-1) et le niveau haut par (+1) [17].

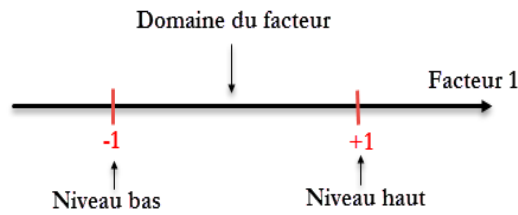


Figure 2 : Représentation graphique d'un domaine du facteur

L'existence d'un second facteur, est représentée également, par un axe gradué et orienté, dont ces niveaux et son domaine de variation sont définis. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier, ainsi un repère cartésien est obtenu, qui définit un espace euclidien à deux dimensions, qui est appelé l'espace expérimental [17].

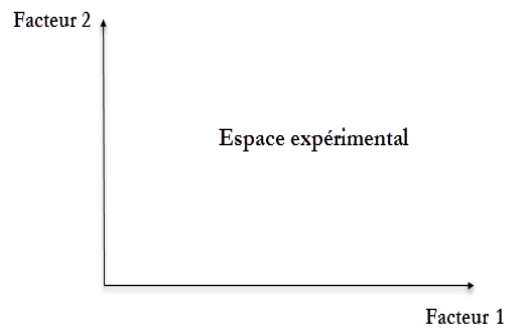


Figure 3 : Le domaine d'étude défini par la réunion des domaines des différents facteurs

### I.3.6 Domaine d'étude

Le regroupement des domaines des facteurs définit le domaine d'étude, qui est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour effectuer les essais. Une étude, ensemble de plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude [17].

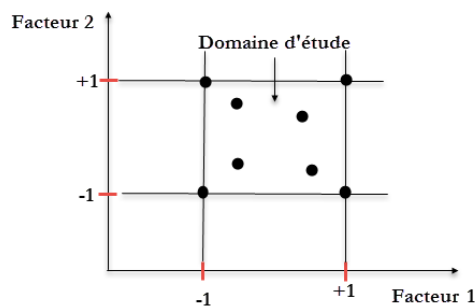


Figure 4 : Représentation schématique d'un domaine d'étude.

### **I.3.7 Recherche des facteurs influents**

Cette étape consiste à répondre à un ensemble de questions concernant l'influence des facteurs considérés sur le phénomène étudié, parmi tous les facteurs susceptibles d'influer sur la réponse, lesquels ont une influence significative et que vaut cette influence, et également de définir les interactions entre les facteurs. Une fois les facteurs influents sont bien déterminés et leurs influences est quantifiées, une modélisation est nécessaire [18].

### **I.3.8 Modélisation**

Dans cette phase, s'effectue la recherche et la détermination de la forme graphique (linéaire, courbe, etc.), de l'influence définie dans l'étape précédente, et la représentation de l'équation mathématique régissant, avec une précision donnée, la variation du phénomène en fonction des facteurs influents. La modélisation d'une réponse se réalise en choisissant des points expérimentaux, dont le nombre est au moins égal à la somme des effets, des interactions et des effets quadratiques. Ainsi, une matrice de  $n$  lignes et  $k$  colonnes, où  $n$  est le nombre d'expériences et  $k$  est le nombre des effets, est définie [18].

### **I.3.9 Optimisation**

Une fois, la détermination de la forme graphique et analytique de la réponse est réalisée, il est primordial de chercher les conditions expérimentales donnant le meilleur résultat. Cette étape est primordial de chercher les conditions expérimentales donnant le meilleur résultat. Cette étape nécessite préalablement une connaissance assez profonde du phénomène étudié [18].

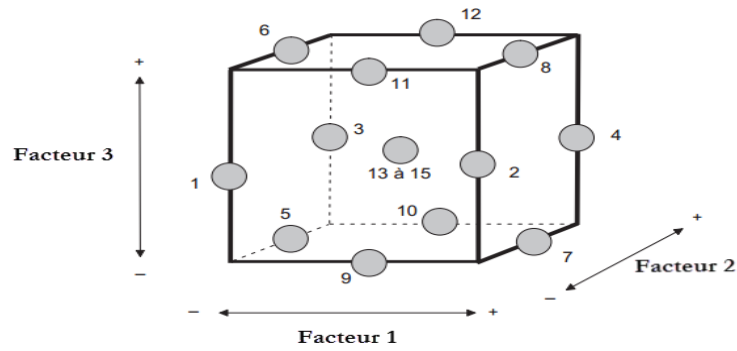
### **I.3.10 Plan de Box-Behnken à trois facteurs**

#### **I.3.10.1 Définition du plan de Box- Behnken**

Ce sont des structures symétriques dans lesquelles chaque facteur prend trois niveaux. Ils sont la combinaison de plans factoriels à deux niveaux, avec des blocs incomplets équilibrés suivant un arrangement particulier avec plusieurs essais au centre du domaine expérimental [17].

#### **I.3.10.2 Description du plan**

Les points expérimentaux sont placés au milieu des arêtes du cube. Cette disposition a pour conséquence de placer, les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, sur une sphère [18].



**Figure 5:** Illustration du plan de Box-Behnken pour trois facteurs.

Un cube possède 12 arêtes (12 essais), aux quelles sont ajoutées trois points au centre du domaine d'étude suivant les conseils de Box et Behnken. Les points situés au centre d'une arête pour conséquence de placer, les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, sur une sphère [18].

Un cube possède 12 arêtes (12 essais), aux quelles sont ajoutées trois points au centre du domaine d'étude suivant les conseils de Box et Behnken. Les points situés au centre d'une arête prennent pour coordonnées  $(0, \pm 1, \pm 1)$  [17]

Les plans de Box-Behnken à trois facteurs contiennent donc 15 points expérimentaux, étant sur une sphère, dont le critère d'iso-variance par rotation sera respecté [17].

**Tableau 01:** La matrice expérimentale du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs[19].

n° essai	Facteur1	Facteur2	Facteur3
1	0	- 1	- 1
2	+ 1	0	- 1
3	0	+ 1	- 1
4	- 1	0	- 1
5	- 1	- 1	0
6	+ 1	- 1	0
7	+ 1	+ 1	0
8	- 1	+ 1	0
9	- 1	- 1	+ 1
10	+ 1	0	+ 1
11	0	+ 1	+ 1
12	- 1	0	+ 1
13	0	0	0





# **Matériels et méthodes**

## II. Matériels et méthodes

### II.1 Plante étudiée

#### II.1.1 Appellations Nom latin :

- *Chamomilla pubescens*

#### II.1.2 Noms vernaculaires :

- Filia (الفيلية)[27].

#### II.1.3 Classification :

- Famille : Astéracées[27].
- Catégorie : Ephémère[27].

#### II.1.4 Description :

Plante annuelle qui apparaît juste après la pluie et ne dure pas très longtemps , sa hauteur est d'environ 20 cm. Elle se présente en petites touffes vert sombre aux tiges d'abord cochées puis se redressant à l'extrémité. Feuilles très découpées et plus ou moins velues. Fleurs jaune vif[28].



**Figure 6:**DEPRESSION (région de Ghardaïa): Mai 2002 [28].

#### II.1.5 Habitat :

Dépressions argilo sableuses et lits d'oued[28].

### **II.1.6 Répartition :**

Assez commune au Sahara. Plante endémique nord-africaine[28].

### **II.1.7 Préparation des échantillons**

Nous avons utilisé des fleurs de *Chamomilla pubescens* pour notre projet

La préparation est basée sur ces étapes principales :

- Récolte : Une plante a été cueillie (commune de Metlili, Province de Ghardaïa) (Algérie) le 7 mai 2022.
- Séchage : Posté à l'ombre avec une température fraîche.
- Broyage : Les fleurs de *Chamomilla pubescens* utilisées dans le broyage ont été broyées à l'aide d'un moulin après les avoir retirées des tiges.

La figure suivante montre notre plante broyée :



**Figure 7:** Les fleurs de *Chamomilla pubescens* après broyage.

## **II.2 Optimisation des paramètres d'extraction des CPT par ultrasons**

L'extraction des composés phénoliques est influencée par plusieurs paramètres, tels que la méthode d'extraction, le choix du solvant, le volume du solvant, la taille des particules, le temps d'extraction, l'acidité, la température, etc.

### **II.2.1 Etudes préliminaires**

L'objectif de l'étude préliminaire des conditions d'extraction était de déterminer la valeur optimale de chaque facteur dans une plage donnée, afin d'obtenir le rendement maximal en composés phénoliques totaux. Cela a été réalisé en variant l'un des trois paramètres étudiés tout en maintenant les deux autres constants, et en répétant l'étude préliminaire trois fois.

### **II.2.1.1 Temps d'extraction**

Une quantité de 0,5 g de poudre de fleur du *Chamomilla pubescens* a été combinée avec 50 ml de méthanol pur et placée dans un appareil ultrasonique (JoidentUltrasonicCleaner, METO 5, Ningbo, Chine) pour une période d'extraction variant de 5 à 25 minutes. L'extrait obtenu a ensuite été filtré et le méthanol.

### **II.2.1.2 Volume du solvant**

L'extraction a été effectuée en plusieurs séries de volume de méthanol dans un intervalle (20-60 ml). Tandis que le temps et la masse sont fixés à 20 min et 0,5g, respectivement. Les extraits ont été filtrés et le méthanol.

### **II.2.1.3 Température d'extraction**

Une quantité de 0,5 g de poudre de fleur du *Chamomilla pubescens* a été combinée avec 50 ml de méthanol pur et placée dans un appareil ultrasonique (JoidentUltrasonicCleaner, METO 5, Ningbo, Chine) pour une température d'extraction variant de 25 à 55 °C. L'extrait obtenu a ensuite été filtré et le méthanol.

## **II.2.2 Dosage des polyphénols totaux:**

Pour quantifier les polyphénols totaux dans les extraits de *Chamomilla pubescens*, une méthode de dosage a été utilisée basée sur la spectrophotométrie UV avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Ce dosage repose sur la mesure de la concentration totale des groupements hydroxyyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin-Ciocalteu est une solution jaune acide (Ac) contenant un complexe polymérique d'ions (hétéropolyacides). En milieu alcalin, ce réactif oxyde les phénols en ions phénolates et réduit partiellement ses hétéropolyacides, ce qui conduit à la formation d'un complexe bleu[3].

### **II.2.2.1 Mode opératoire**

Pour réaliser le dosage, 500 µl de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois ont été mélangés avec 500 µl d'extrait. Après 2 minutes, 2 ml de carbonate de sodium à 2% ont été ajoutés, et l'absorbance a été mesurée à 760 nm par rapport à un blanc après 30 minutes d'incubation à 25°C.

### **II.2.2.2 Expression des résultats**

La quantification des polyphénols a été réalisée en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire  $y = ax + b$  établie avec un étalon standard "acide gallique" à différentes concentrations. Les résultats sont exprimés en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de MV(mg EAG/g de MV).

### II.2.3 Activité anti-radicalaire (DPPH):

Le DPPH (1,1-Diphényl-2-PyrrilHydrazyl) est un radical libre stable de couleur violette intense, soluble dans du méthanol. Il a été l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques.

La réduction du radical libre DPPH<sup>•</sup> (2,2'-diphényl-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être mesurée par spectrométrie UV-Visible en observant la diminution de l'absorbance à 517 nm due à l'action des antioxydants. En présence de piègeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette se réduit en 2,2'-diphényl-1-picrylhydrazine de couleur jaune.

#### II.2.3.1 Mode opératoire

Le protocole expérimental a consisté à mélanger 1 ml de solution méthanolique de DPPH (250 µM) avec 1 ml de chaque extrait. Le mélange a été agité à l'aide d'un vortex et laissé pendant 30 minutes dans l'obscurité et à température ambiante. La diminution de l'absorbance de la solution réactionnelle a été mesurée à une longueur d'onde de 517 nm. La capacité antioxydante a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique (vitamine C) par gramme de matière sèche (CAEAA). L'expérience a été répétée 3 fois afin de calculer la moyenne. Le calcul de CAEAA a été effectué en utilisant l'équation suivante :

$$CAEAA = \frac{(Abs_C - Abs_E)}{A} \times D \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{Q_E} \quad (\text{Eq.(5)})$$

**Abs<sub>C</sub>** : Absorbance du contrôle (sans l'ajout de l'extrait) .

**Abs<sub>E</sub>** : Absorbance en présence de l'extrait (DPPH restant après la réaction avec l'extrait) .

**A** : La pente de la courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (vitamine C) .

**D** : Nombre de dilution de l'extrait .

**V** : Le volume total de l'extrait (ml) .

**Q<sub>E</sub>** : La quantité de l'échantillon utilisé en g (0.5g).

### II.2.4 Test d'ABTS

Le test repose sur la capacité des extraits à stabiliser le radical cationique ABTS<sup>•+</sup> qui a une couleur verte-bleue et peut être converti en une forme incolore. Le radical [2,2'-azino-bis-(3-éthylbenzthiazoline-6-sulfonique)] ou ABTS<sup>•+</sup> est généré en présence du persulfate de potassium, et la réaction est initiée par l'ajout d'une solution de persulfate de potassium (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>). La diminution de la coloration verte-bleue peut être mesurée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 734 nm.

### **II.2.4.1 Mode opératoire**

Trois solutions différentes ont été préparées pour générer le radical  $ABTS^{\dot{+}}$ . La première solution était une solution aqueuse d'ABTS (20 mM), la deuxième était une solution aqueuse de  $K_2S_2O_8$  (70 mM), et la troisième était une solution tampon diphosphate pH=7.

On ajoute 100 $\mu$ L de  $K_2S_2O_8$  à 10ml ABTS après 16 h on prend 1ml ajoute avec 25ml de solution tampon, ce qui a donné une coloration vert-bleue indiquant la formation du radical  $ABTS^{\dot{+}}$ . Ensuite, 100  $\mu$ L de chaque dilution de l'extrait ont été mélangés avec 900 $\mu$ L de la solution d'ABTS $^{\dot{+}}$ , et le mélange a été incubé dans l'obscurité pendant 15 min. Le calcul du CAEAA a été réalisé en utilisant l'équation (4).

### **II.2.5 Matrice d'expériences**

Le plan expérimental utilisé était le plan Box-Behnken pour 3 facteurs : le temps ( $X_1$ ), le volume de solvant ( $X_2$ ) et la température ( $X_3$ ), avec trois niveaux (-1, 0 et 1). Ce plan a permis de générer 45 essais, comprenant 15 points factoriels et 3 répétitions au centre pour évaluer l'erreur pure (tableau 1).

À partir des données expérimentales, un modèle polynomial du second ordre basé sur le modèle Box-Behnken a été utilisé pour établir la relation entre les variables indépendantes et la réponse, afin de prédire les conditions optimales. Le modèle quadratique a été formulé selon l'équation suivante [26] .

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2 \quad \text{(Eq.(6))}$$

Y : représente la réponse .

$b_0$  : représente la valeur moyenne théorique de la réponse (interception) .

$b_1b_2b_3$  : sont les coefficients des termes linéaire .

$b_{11}b_{22}b_{33}$  : sont les coefficients des termes quadratiques .

$b_{12}b_{13}b_{23}$  : sont les coefficients des termes d'interaction.

### **II.3 Analyse statistique**

L'analyse statistique des résultats expérimentaux de l'étude préliminaire à un seul facteur a été réalisée à l'aide du logiciel Excel 2016. Toutes les données ont été obtenues à partir de trois répétitions afin de calculer la moyenne. Le logiciel Design-Expert (Version 13) a été utilisé pour estimer les coefficients des polynômes correspondant à chaque réponse.

L'analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour évaluer la significativité des coefficients du modèle, avec un seuil de signification fixé à  $p < 0,05$ . La valeur- $p$  ont été employés pour déterminer l'importance de chaque coefficient de régression. L'adéquation du modèle a été évaluée en examinant l'absence de manque d'ajustement.

# **Résultats et discussion**

### **III. Résultats et discussion**

#### **III.1 Extraction des composés phénoliques par ultrason**

##### **III.1.1 Extraction par ultrason**

Avant de procéder à l'extraction selon cette méthode, il est primordial d'identifier les conditions de départ. Cette étape préliminaire permet d'évaluer les conditions optimales requises pour une extraction réussie. En comprenant les paramètres de départ, il devient possible d'optimiser le processus d'extraction et d'obtenir des résultats de qualité.

##### **III.1.2 Etudes préliminaires**

Lors de la mise en place d'un plan expérimental pour l'extraction des composés phénoliques, il est essentiel de réaliser des études préliminaires afin de déterminer les niveaux minimum et maximum des variables impliquées. Ces études jouent un rôle crucial dans la sélection d'un intervalle approprié pour l'extraction de ces composés pour chaque variable indépendante. En effet, en établissant les limites inférieures et supérieures des variables, il devient possible de définir des conditions optimales pour l'extraction des composés phénoliques. Cette démarche préliminaire permet ainsi de garantir des résultats précis et reproductibles, en fournissant des bases solides pour la mise en œuvre du plan expérimental.

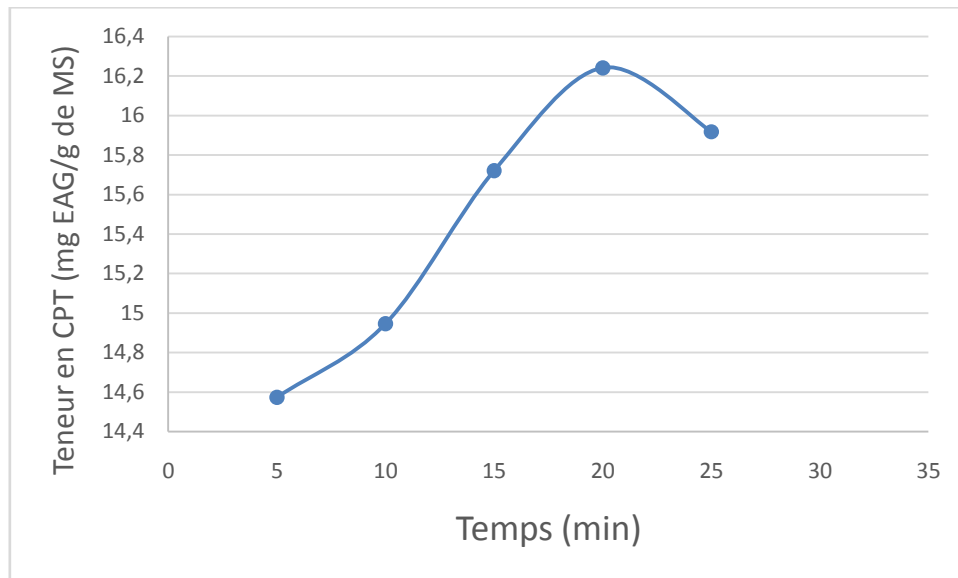
##### **III.1.2.1 Effet de différents temps d'extraction**

Le temps de contact entre les phases solvant et matériel végétal joue un rôle crucial et constitue l'un des paramètres les plus importants à maîtriser. Il correspond à la durée pendant laquelle le solvant et le matériel végétal sont mis en contact, et il exerce une influence sur la libération progressive des solutés de la matrice végétale vers le solvant, ce qui impacte directement l'efficacité de l'extraction. Ce paramètre est étroitement lié à la cinétique de l'extraction, et la compréhension de cette cinétique permet de déterminer le moment optimal pour arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint.

Dans notre étude, les temps d'extraction ont varié de 5 minutes à 25 minutes, et les résultats obtenus sont présentés dans le graphique de la figure 5. Par ailleurs, les autres conditions d'extraction ont été maintenues constantes, avec une température de 25°C et un rapport solvant/matière végétale de 0,5g/50ml.

D'après les résultats obtenus (figure 8), il a été observé que la teneur en composés phénoliques extraits du *Chamomilla pubescens* atteint un maximum de 16,247 mg EAG/g de MV lorsqu'ils sont extraits pendant 20 minutes. Au-delà de cette durée, il n'y a pas d'augmentation

supplémentaire de la teneur en composés phénoliques, ce qui indique que l'extraction prolongée ne présente pas d'avantages supplémentaires dans ce contexte. Cependant, il est important de noter que l'exposition prolongée aux rayonnements électromagnétiques lors de l'extraction par ultrasons peut entraîner une dégradation thermique des composés phénoliques. Les résultats de l'analyse statistique révèlent une différence significative ( $P < 0,05$ ) dans les teneurs en polyphénols extraites à différents intervalles de temps (de 5 à 25 minutes), variant de 14,573 à 16,247 mg EAG/g de MV. Dans le cadre des essais préliminaires, le temps de 20 minutes a été sélectionné, tandis que la plage de 15 à 25 minutes a été choisie pour les essais de MRS.



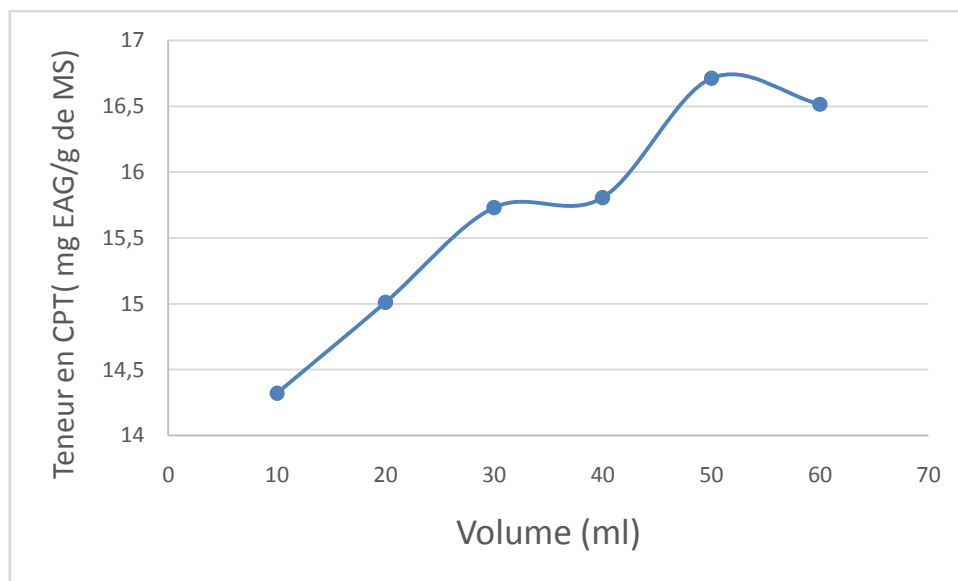
**Figure 8:** Effet de différents temps d'extraction sur les CPT.

### III.1.2.2 Effet de rapport (masse /volume)

Le volume de solvant utilisé, ou le rapport masse de poudre/volume de solvant, est un facteur essentiel qui influence les résultats obtenus. Afin d'évaluer son impact, différentes extractions ont été réalisées en utilisant des volumes de solvant variés. En modifiant le volume de solvant, il est possible d'optimiser l'extraction en assurant une solubilisation adéquate des composés phénoliques présents dans la poudre. L'étude de l'influence du volume de solvant permettra ainsi de déterminer les conditions optimales pour obtenir des rendements satisfaisants lors de l'extraction des composés phénoliques.

D'après les résultats présentés dans la figure 9, l'effet du rapport masse de poudre/volume de solvant sur l'extraction des phénoliques des extraits du *Chamomilla pubescens* a été évalué en

utilisant six rapports différents (0,5:10, 0,5:20, 0,5:30, 0,5:40, 0,5:50 et 0,5:60 g/ml) pendant une période d'extraction de 20 minutes et à une température de 25°C. L'analyse statistique révèle une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les différents rapports. Le rapport 0,5:50 g/ml a montré le meilleur rendement en termes de composés phénoliques, avec une teneur de 16,712 mg EAG/g de MV, suivi par le rapport 0,5:60 g/ml avec une teneur de 16,516 mg EAG/g de MV. En revanche, le rapport 0,5:10 g/ml a présenté la teneur la plus basse, avec 14,32 mg EAG/g de MV. Au-delà du rapport 0,5:60, les teneurs en composés phénoliques n'ont plus augmenté, indiquant que l'augmentation de la quantité de solvant n'est pas utile pour extraire davantage de composés phénoliques. Ces résultats sont cohérents avec la deuxième loi de diffusion de Fick, où un équilibre final est atteint entre les concentrations de soluté dans la matrice solide et le solvant après une durée spécifique. Le rapport 0,5:50 a été sélectionné pour les essais préliminaires, tandis que la plage de 0,5:40 à 0,5:60 g/ml a été choisie pour les essais de MRS



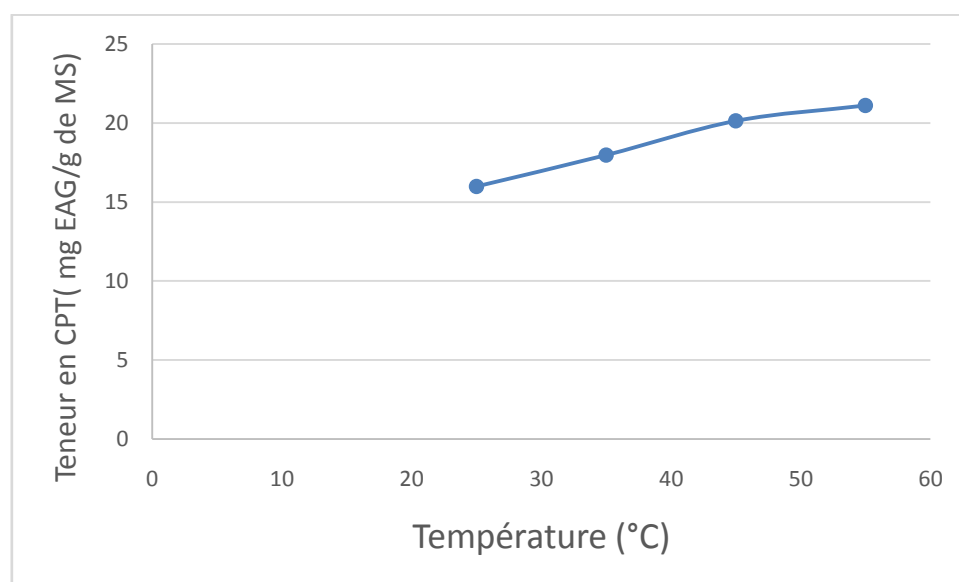
**Figure 9:** Effet volume sur l'extraction des CPT.

### III.1.2.3 Effet de température

Le choix de la température constitue une étape cruciale. L'élévation de la température a un effet positif sur l'extraction des composés phénoliques, en rendant les membranes cellulaires plus perméables et en augmentant la solubilité et le coefficient de diffusion des composés à extraire. De plus, elle réduit la viscosité du solvant, facilitant ainsi sa pénétration dans les substrats solides. Dans le cadre de notre étude, nous avons réalisé des essais d'extraction en

utilisant différentes températures (25, 35, 40 et 55 °C) afin de déterminer leur impact sur l'efficacité globale de l'extraction.

Selon les résultats illustrés dans la figure 10, la température d'extraction a une influence sur le rendement en composés phénoliques totaux des extraits étudiés. On observe une augmentation de la teneur en composés phénoliques totaux avec l'augmentation de la température d'extraction de 25 à 55 °C, où elle atteint un maximum. La température d'extraction de 55°C présente la teneur la plus élevée en composés phénoliques totaux, tandis que la température de 25°C présente la teneur la plus basse. Une différence significative ( $p < 0,05$ ) est observée entre les différentes températures testées. La température d'extraction de 45°C a été sélectionnée pour les essais préliminaires, tandis que la plage de 35-55°C a été choisie pour les essais de MRS.



**Figure 10:** Effet température sur l'extraction des CPT.

### **III.2 Optimisation des conditions d'extraction des CPT par ultrasons**

Trois facteurs, à savoir le temps d'extraction ( $X_1$ ), le volume d'extraction ( $X_2$ ) et la température d'extraction ( $X_3$ ), ont été utilisés dans le but d'optimiser l'extraction par ultrason des polyphénols totaux du *Chamomilla pubescens*.

L'analyse présentée ci-dessus met en évidence l'influence de toutes les variables mentionnées sur l'efficacité et le rendement de l'extraction. Bien qu'elles aient été étudiées séparément, il convient de souligner qu'elles interagissent entre elles dans le système. Les résultats obtenus

montrent que l'interaction de ces variables se reflète dans le contenu phénolique des extraits obtenus.

Les facteurs clés à prendre en compte lors de l'optimisation, ainsi que leurs conditions optimales respectives déterminées à partir de l'étude réalisée, sont présentés. Les trois facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) ont été testés à trois niveaux (-1, 0 et +1) pour optimiser l'extraction des composés, comme indiqué dans le tableau2 :

**Tableau 1:** Les domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation des composés phénoliques du *Chamomilla pubescens*.

Variables		Niveaux		
		-1	0	1
Temps (min)	$X_1$	15	20	25
Volume (ml)	$X_2$	40	50	60
Température (°C)	$X_3$	35	45	55

### III.2.1 Plan d'expérience Box-Behnken(BBD)

Les données expérimentales obtenues à partir des 15 essais, comme présenté dans le tableau3, ont été analysées de manière aléatoire en utilisant un plan d'expérience BBD. Les valeurs mesurées des réponses ont été comparées à celles prédites par le modèle pour évaluer sa validité. Les résultats obtenus ont révélé une variation de la teneur en CPT (composés phénoliques totaux) allant de 22,51 à 13,97 mg EAG/g de MV, comme indiqué dans le tableau3 . Ces résultats confirment que les facteurs tels que le temps, le volume et la température ont une influence sur l'extraction des CPT. La plage étendue des valeurs de teneur en CPT observées indique que des variations dans ces facteurs peuvent conduire à des variations significatives dans les résultats d'extraction. Cette analyse souligne l'importance de comprendre et d'optimiser ces facteurs pour obtenir des rendements optimaux en termes de teneur en CPT lors du processus d'extraction.

**Tableau 2:** la matrice expérimentale de Box-Behnken pour trois facteurs ( $X_1$ ,  $X_2$  et  $X_3$ ) et leurs réponses CPT, DPPH et ABTS exprimé en (mg/g de MV).

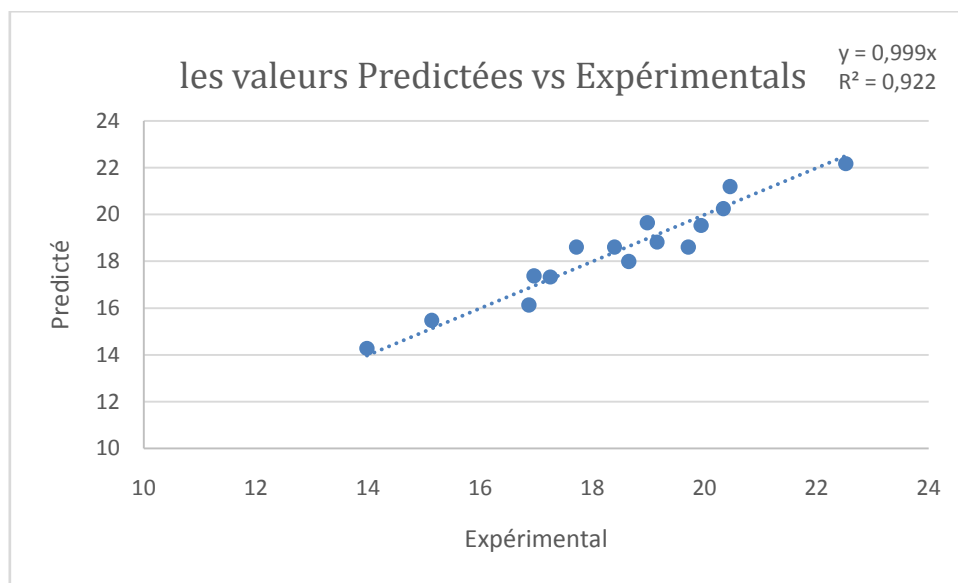
Expérimental	Facteurs			Réponse		
	$X_1$ (min)	$X_2$ (ml)	$X_3$ (°C)	CPT	DPPH	ABTS
1	15	40	45	16,96	0,0188	0,035072
2	25	40	45	18,649	0,0209	0,036063
3	15	60	45	18,983	0,0212	0,036257
4	25	60	45	19,941	0,0196	0,034489
5	15	50	35	16,872	0,0167	0,031542
6	25	50	35	13,979	0,0140	0,031412
7	15	50	55	19,149	0,0194	0,038213
8	25	50	55	20,448	0,0214	0,041031
9	20	40	35	15,129	0,0172	0,029133
10	20	60	35	17,248	0,0190	0,032935
11	20	40	55	20,327	0,0219	0,040156
12	20	60	55	22,517	0,0227	0,042164
13	20	50	45	17,710	0,0190	0,039395
14	20	50	45	18,388	0,0178	0,036748
15	20	50	45	19,708	0,0189	0,039444

### III.2.2 Validation du modèle de CPT

Le modèle mathématique utilisé dans les plans d'expériences permet d'établir une relation entre la teneur en composés phénoliques, considérée comme la réponse de cette étude, et les facteurs qui ont un impact sur cette teneur.

### III.2.3 Coefficient de détermination ( $R^2$ ) de CPT

Dans cette étude, les résultats du modèle sont très prometteurs. Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) élevé de 0,9276 indique que le modèle explique 92,76% de la variation observée dans les données. Cela signifie que la majorité des variations dans la teneur en composés phénoliques peuvent être expliquées par les facteurs pris en compte dans le modèle.



**Figure 11:** Graphique des valeurs observées CPT en fonction des valeurs prévues.

De plus, le coefficient de détermination ajusté ( $R^2$  ajusté) de 0,7973 confirme la significativité du modèle même après avoir éliminé les termes inutiles. Le  $R^2$  ajusté tient compte du nombre de termes présents dans le modèle, en pénalisant ceux qui n'apportent pas de contribution significative à l'explication des données. Ainsi, un  $R^2$  ajusté élevé, proche du  $R^2$ , indique une bonne adéquation du modèle.

Ces résultats suggèrent que le modèle utilisé dans cette étude est fiable et offre une explication solide de la relation entre les facteurs étudiés et la teneur en composés phénoliques. Il offre donc une base solide pour des prédictions et des analyses supplémentaires[29].

**Tableau 3:**L'analyse de la variance des modèles polynomiaux de second ordre

Régression	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> (ajusté)	Défaut d'ajust. (Prob>F)
Y <sub>CPT</sub>	0,9276	0,7973	0,5694
Y <sub>DPPH</sub>	0,976	0,9329	0,6424
Y <sub>ABTS</sub>	0,9377	0,8255	0,4944

### III.2.4 Effet des facteurs (coefficients)

L'analyse de la variance de la régression des coefficients a été utilisée pour évaluer l'impact des variables X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> et X<sub>3</sub> (temps, volume et température) sur l'extraction des CPT. Cette analyse permet de déterminer le degré d'influence de ces facteurs sur le processus d'extraction. Les p-valeurs ont été utilisées pour évaluer la signification de chaque coefficient et pour déterminer l'intensité de l'interaction de chaque paramètre. Les p-valeurs les plus petites indiquent la plus grande signification du facteur correspondant. Les résultats de cette analyse sont présentés dans le tableau 5. Ils fournissent des informations essentielles sur les facteurs qui ont une influence significative sur l'extraction des composés phénoliques. Cette analyse permet de déterminer quels facteurs, parmi le temps, le volume et la température, sont les plus importants pour obtenir des résultats optimaux dans le processus d'extraction des CPT.

**Tableau 4: Coefficients de régression et leurs significations statistiques.**

Terme	Coefficients	Probabilité > t
CPT		
Constant		
<b>b<sub>0</sub></b>	18,6021	0,0001*
Linéaire		
<b>b<sub>1</sub></b>	0,131049	0,7208
<b>b<sub>2</sub></b>	<b>0,95262</b>	0,0403*
<b>b<sub>3</sub></b>	<b>2,40164</b>	0,0010*
Interaction		
<b>b<sub>12</sub></b>	-0,18187	0,7257
<b>b<sub>13</sub></b>	1,04825	0,0854
<b>b<sub>23</sub></b>	0,0178937	0,9723
Quadratique		
<b>b<sub>11</sub></b>	-0,580299	0,3068
<b>b<sub>22</sub></b>	0,612859	0,2833
<b>b<sub>33</sub></b>	-0,409282	0,4587

Significatif avec p<0,05.

### **III.2.5 Analyse du modèle mathématique**

Le choix d'un plan d'expérience n'a de sens que s'il est basé sur un modèle mathématique préalablement défini. Les modèles polynomiaux sont les plus couramment utilisés, généralement de degré inférieur ou égal à deux[30]. À partir des résultats de notre étude, nous avons identifié les coefficients significatifs et la fonction qui gouverne l'extraction des composés phénoliques à partir des extraits de *Chamomilla pubescens*. Ainsi, le modèle mathématique du BBD dans cette étude peut être représenté par la relation suivante :

$$\text{CPT} = 18,6 + 0,131X_1 + 0,952X_2 + 2,40X_3 - 0,181X_1 X_2 + 1,04X_1 X_3 + 0,017X_2 X_3 - 0,58X_1^2 + 0,61X_2^2 - 0,40X_3^2 \quad (\text{Eq.}(7))$$

### **III.2.6 Effet linéaire**

Les résultats de cette étude indiquent que parmi les facteurs étudiés, le volume d'extraction ( $X_2$ ) et la température ( $X_3$ ) ont une influence hautement significative sur l'extraction des composés phénoliques de la matière sèche du *Chamomilla pubescens*, avec des probabilités de  $p = 0,0403$  et  $0,0010$  respectivement (voir le tableau 5). Cela signifie que ces deux facteurs ont un effet notable sur le processus d'extraction des CPT.

En revanche, le facteur temps ( $X_1$ ) n'a pas démontré une influence significative sur l'extraction des composés phénoliques. La probabilité associée à ce facteur était supérieure à la valeur seuil ( $p > 0,05$ ), ce qui suggère que le temps n'a pas d'effet significatif sur le processus d'extraction des CPT dans cette étude spécifique.

Ces résultats soulignent l'importance du contrôle du volume d'extraction et de la température pour obtenir des rendements élevés dans l'extraction des composés phénoliques du *Chamomilla pubescens*. Ils mettent également en évidence la nécessité de considérer ces facteurs de manière stratégique lors de la conception et de l'optimisation des procédures d'extraction.

### **III.2.7 Effet quadratique**

Les résultats de cette étude révèlent que parmi les facteurs étudiés, l'effet quadratique le plus prononcé est associé au facteur de volume ( $X_2X_2$ ) avec une probabilité de  $p = 0,2833$ . Cela indique que l'effet de ce facteur sur l'extraction des composés phénoliques présente une relation non linéaire et qu'il a une certaine influence sur le processus, bien que cette influence ne soit pas statistiquement significative.

Ensuite, l'effet quadratique du temps d'extraction ( $X_1X_1$ ) est également présent, mais avec une probabilité de  $p=0,3068$ . Bien que cet effet soit légèrement plus faible que celui du facteur de volume, il suggère également une relation non linéaire entre le temps d'extraction et l'extraction des composés phénoliques. Cependant, cette relation n'a pas été démontrée comme étant statistiquement significative dans cette étude.

En revanche, l'effet quadratique de la température ( $X_3X_3$ ) n'a pas été observé comme significatif, avec une probabilité de  $p=0,4587$ . Cela indique que la relation entre la température et l'extraction des composés phénoliques est linéaire ou que tout effet quadratique est négligeable.

### **III.2.8 Analyse des surfaces de réponse**

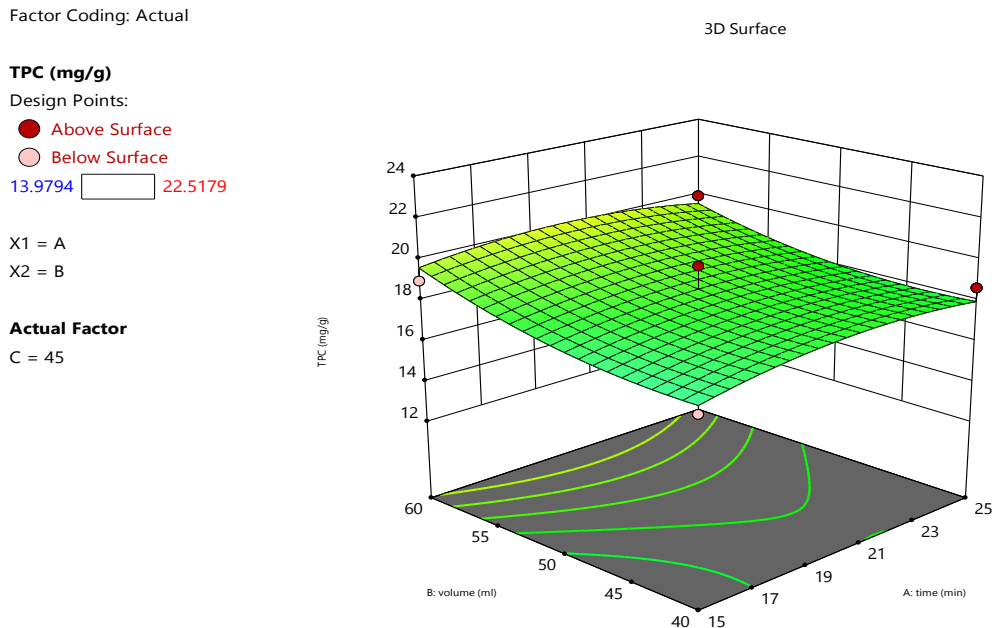
#### **III.2.8.1 Temps-Volume**

Les résultats de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, le volume et le taux d'extraction des composés phénoliques sont présentés dans la figure 12. Les résultats indiquent que le couple temps et volume ( $X_1X_2$ ) n'a pas d'effet significatif, avec une probabilité de  $p=0,725$ . Cela signifie que la variation du temps d'extraction de 15 à 25 minutes et du volume de 40 à 60 ml n'a pas conduit à des variations significatives dans la teneur en composés phénoliques extraits.

Cependant, les résultats ont révélé une augmentation de la teneur en composés phénoliques lorsque le temps d'extraction a été augmenté de 15 à 22 minutes, tout en maintenant le volume à 53 ml. La teneur en composés phénoliques est passée de 18.97 à 22.51 mg EAG/g, ce qui suggère une augmentation importante. Cependant, il convient de noter que cette tendance a été inversée lorsque le temps d'extraction a dépassé une certaine valeur.

En effet, lorsqu'un temps d'extraction de 22 à 25 minutes et un volume d'extraction de 53 à 60 ml ont été appliqués, une diminution remarquable de la quantité de composés extraits a été constatée. Ces résultats sont cohérents avec les observations de l'étude préliminaire qui ont étudié la cinétique d'extraction sous l'effet d'une irradiation ultrasonique.

Cela suggère qu'il existe une relation complexe entre le temps d'extraction, le volume et la quantité de composés phénoliques extraits. Au-delà d'une certaine valeur, l'augmentation du temps d'extraction et du volume peut avoir un effet négatif sur l'extraction des composés phénoliques, ce qui peut être lié à des mécanismes d'extraction spécifiques à cette étude, tels que l'effet de l'irradiation ultrasonique.

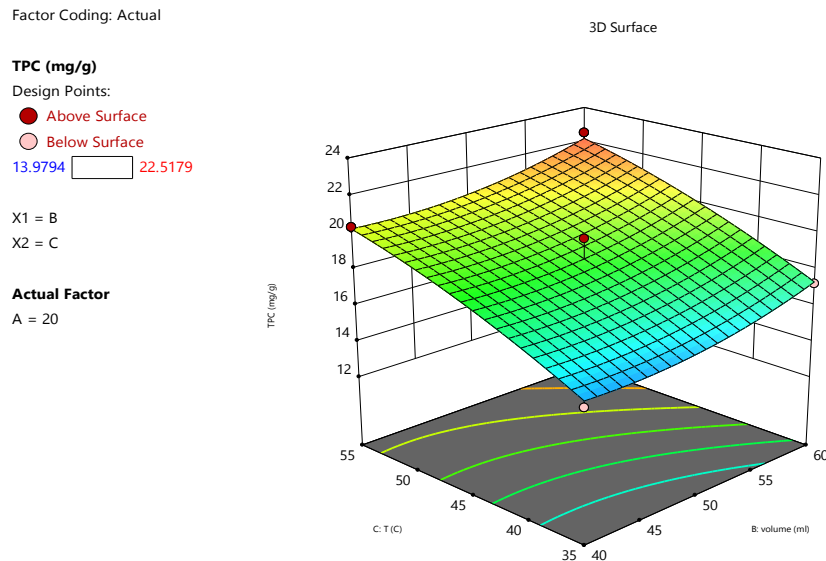


**Figure 12:** Surface de réponse pour les effets temps /volume sur le rendement des composés phénoliques du *Chamomilla pubescens*.

### III.2.8.2 Volume-température

Le couple volume-température ( $X_2X_3$ ) a une influence insignifiante sur l'extraction des composés phénoliques totaux (CPT), comme le montre le résultat statistique  $p=0,085$ . Cela indique que le volume et la température utilisés dans l'étude n'ont pas un impact significatif sur le taux d'extraction des CPT. Les résultats de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, la température et le taux d'extraction des CPT sont présentés dans la figure 13. Selon cette figure, on observe une influence positive de la température et du temps d'extraction sur l'extraction des composés phénoliques. Lorsque le temps d'extraction et la température sont simultanément augmentés, cela entraîne une augmentation de la teneur en composés phénoliques, passant de 13,97 à 22,51 mg EAG/g. Cette observation suggère que l'augmentation à la fois du temps d'extraction et de la température favorise une extraction plus efficace des composés phénoliques.

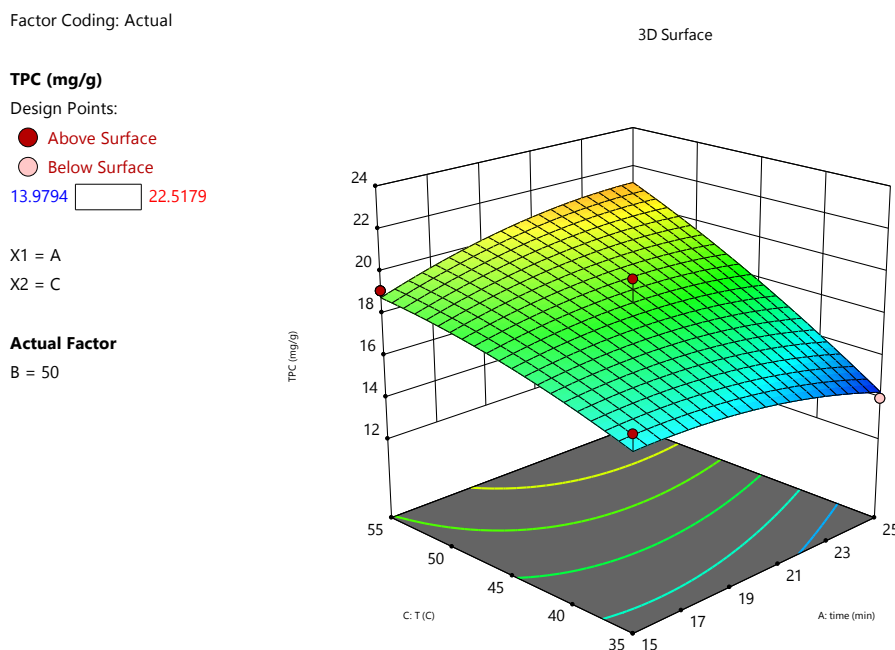
Cela implique que prolonger la durée d'extraction et augmenter la température peuvent permettre d'extraire davantage de composés phénoliques, ce qui est bénéfique si ces composés présentent un intérêt particulier dans le contexte de l'étude ou de l'application envisagée.



**Figure 1:** Surface de réponse pour les effets volume /température sur le rendement des composés phénoliques du *Chamomilla pubescens*.

### III.2.8.3 Température- temps

La figure 14 montre la surface de réponse qui présente l'effet de temps et la température ( $X_1 X_3$ ) sur l'extraction des composés phénoliques. Les résultats suggèrent que l'augmentation du temps d'extraction dans la plage de 15 à 25 minutes et l'augmentation de la température dans la plage de 35 à 55°C sont bénéfiques pour obtenir une teneur plus élevée en composés phénoliques. Cependant, des durées d'extraction plus longues associées à une augmentation de la température peuvent conduire à une teneur plus importante en composés phénoliques. Ce qui explique la valeur maximale de 22,51 mg EAG/g à un temps de 25 min et une température 55°C. Cela peut être dû à une extraction plus efficace des composés à des températures plus élevées, mais il convient d'être prudent car des réactions de dégradation peuvent également se produire à des températures plus élevées sur une période prolongée.



**Figure 2:** Surface de réponse pour les effets temps /température sur le rendement des composés phénolique du *Chamomilla pubescens*.

### III.2.9 Paramètres optimaux

Cette étude démontre que le phénomène étudié peut être correctement modélisé à l'aide d'un modèle polynômial de deuxième ordre. Il a été observé que les conditions expérimentales optimales, permettant d'obtenir une extraction maximale des CPT, se situent dans le domaine expérimental. Les conditions d'extraction optimale, identifiées à l'aide du logiciel Design Expert, sont présentées dans le tableau 6.

**Tableau 5:** Conditions optimales d'extraction des composés phénoliques par ultrason (mg EAG/g MV).

Temps d'extraction (min)	(Volume) (ml)	Température (°C)	Valeur prédite (mg EAG/g MS)
<b>25</b>	<b>59,981</b>	<b>54,927</b>	<b>22,576</b>

### III.3 Test d'évaluation d'activité antioxydante

#### III.3.1 Activité anti-radicalaire (DPPH)

La partie de cette étude est d'évaluer l'activité antiradicalaire des extraits du *Chamomilla pubescens* en utilisant le DPPH, un radical libre de couleur violette qui se réduit en un composé jaune en présence d'antioxydants. L'activité antiradicalaire des composés est mesurée en analysant l'intensité de la coloration à une longueur d'onde de 517 nm à l'aide d'un

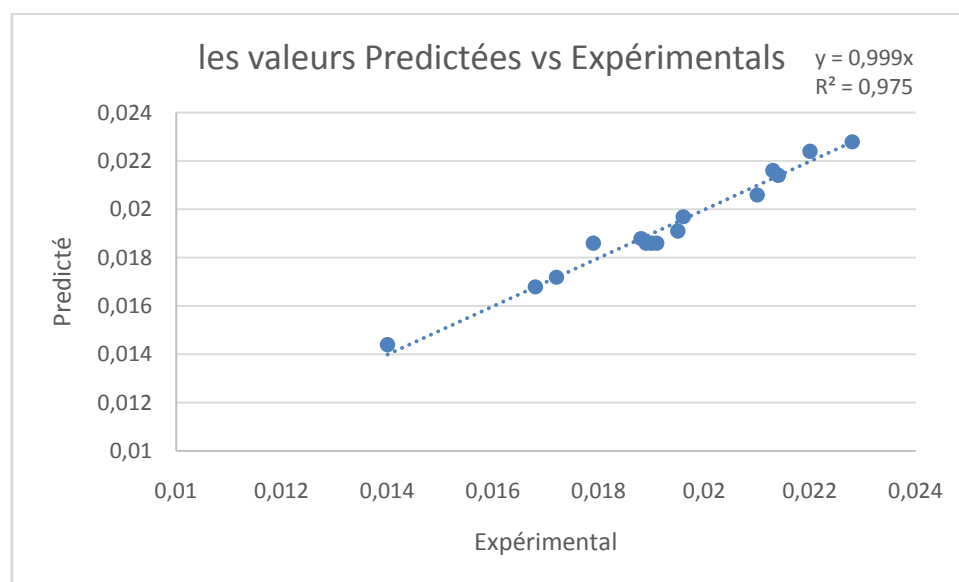
spectrophotomètre. Cette intensité de coloration est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés testés[31].

Pour cette étude, l'acide ascorbique, connu sous le nom de vitamine C, a été utilisé comme étalon à différentes concentrations afin de calibrer les mesures. La capacité antioxydante des extraits étudiés a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière végétal (EAAC). Cela permet de quantifier et de comparer l'activité antiradicalaire des différents extraits.

Les résultats obtenus démontrent que tous les extraits présentent des activités antiradicalaires significatives, variant de 0,014 à 0,022 mg EAAC/g de MV (Tableau 3). Ces résultats mettent en évidence l'influence des paramètres étudiés, tels que le temps, le volume et la température, sur l'activité antiradicalaire des extraits testés.

### **III.3.1.1 Coefficient de corrélation :**

L'analyse statistique a révélé que le coefficient de corrélation  $R^2$  et le coefficient d'ajustement s'élèvent respectivement à 0,9760 et 0,9329, qui sont proches de 1. De plus, le manque d'ajustement du modèle s'est révélé insignifiant avec une valeur de  $p$  inférieure à 0,05. Ces résultats indiquent que le modèle peut être utilisé pour prédire les résultats relatifs à l'activité antioxydante obtenue (Tableau 3).



**Figure 3:** Graphique des valeurs observées DPPH en fonction des valeurs prévues.

**III.3.1.2 Effet des facteurs (coefficients) :**

Les résultats des coefficients de régression estimés du modèle polynomial sont présentés dans le tableau 7

**Tableau 6:** Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Terme	Coefficients	Probabilité > t
DPPH		
Constante		
$b_0$	$1,86 \times 10^{-2}$	< 0,0001*
Linéaire		
$b_1$	$-4,7 \times 10^{-5}$	0,8290
$b_2$	$4,62 \times 10^{-4}$	0,0758
$b_3$	$2,32 \times 10^{-3}$	<0,0001*
Interaction		
$b_{12}$	$-9,35 \times 10^{-4}$	0,0241*
$b_{13}$	$1,17 \times 10^{-3}$	0,0102*
$b_{23}$	$2,44 \times 10^{-3}$	0,4421
Quadratique		
$b_{11}$	$4,01 \times 10^{-3}$	0,2446
$b_{22}$	$1,94 \times 10^{-3}$	0,0014*
$b_{33}$	$3,11 \times 10^{-3}$	0,3537

Significatif avec  $p < 0,05$ .

**III.3.1.3 Analyse du modèle mathématique :**

Selon les résultats de l'étude, les valeurs des coefficients significatifs ont été déterminées et la fonction régissant l'activité antiradicalaire des extraits du *Chamomilla pubescens* est maintenant bien établie. Le modèle mathématique utilisé dans cette étude peut être représenté par la relation suivante :

$$DPPH = 1,86 \times 10^{-2} - 4,7 \times 10^{-5} X_1 + 4,62 \times 10^{-4} X_2 + 2,32 \times 10^{-3} X_3 - 9,35 \times 10^{-4} X_1 X_2 + 1,17 \times 10^{-3} X_1 X_3 + 2,44 \times 10^{-3} X_2 X_3 + 4,01 \times 10^{-3} X_1^2 + 1,94 \times 10^{-3} X_2^2 + 3,11 \times 10^{-3} X_3^2 \quad \text{(Eq.(8))}$$

**III.3.1.4 Effet linéaire :**

Les résultats de cette étude indiquent que la température d'extraction ( $X_3$ ) a une influence très significative sur l'activité antiradicalaire des extraits de *Chamomilla pubescens*, avec une probabilité de  $p = 0,0001$ . Cela signifie que des variations dans la température d'extraction entraînent des variations significatives dans l'activité antiradicalaire des extraits.

Cependant, il a été observé que les facteurs de temps d'extraction ( $X_1$ ) et de volume d'extraction ( $X_2$ ) n'ont pas d'impact significatif sur l'activité antiradicalaire. Cela suggère que, dans cette étude, le temps et le volume d'extraction n'ont pas joué un rôle important dans la modification de l'activité antiradicalaire des extraits de *Chamomilla pubescens*.

Ces résultats mettent en évidence l'importance de la température d'extraction en tant que facteur clé dans l'optimisation de l'activité antiradicalaire des extraits de *Chamomilla pubescens*, tandis que le temps et le volume d'extraction semblent avoir moins d'effet dans le contexte de cette étude spécifique.

### III.3.1.5 Effet quadratique

L'analyse des résultats révèle que l'effet quadratique le plus prononcé est associé au facteur de volume de méthanol ( $X_2 X_2$ ) avec une probabilité de  $p=0,0014$ . Cela indique que la variation du volume de méthanol a un impact significatif et non linéaire sur l'activité étudiée. En d'autres termes, les changements dans le volume de méthanol peuvent avoir un effet important sur l'activité antiradicalaire.

En revanche, les effets quadratiques du temps d'extraction ( $X_1 X_1$ ) et de la température ( $X_3 X_3$ ) ne se sont pas révélés significatifs, avec des probabilités respectives de  $p=0,2446$  et  $0,3537$ . Cela suggère que les variations du temps d'extraction et de la température ont peu d'influence sur l'activité antiradicalaire, du moins dans le cadre de cette étude spécifique.

Ces résultats mettent en évidence l'importance du facteur de volume de méthanol et soulignent la nécessité de l'optimiser pour maximiser l'activité antiradicalaire.

### III.3.1.6 Analyse des surfaces de réponse :

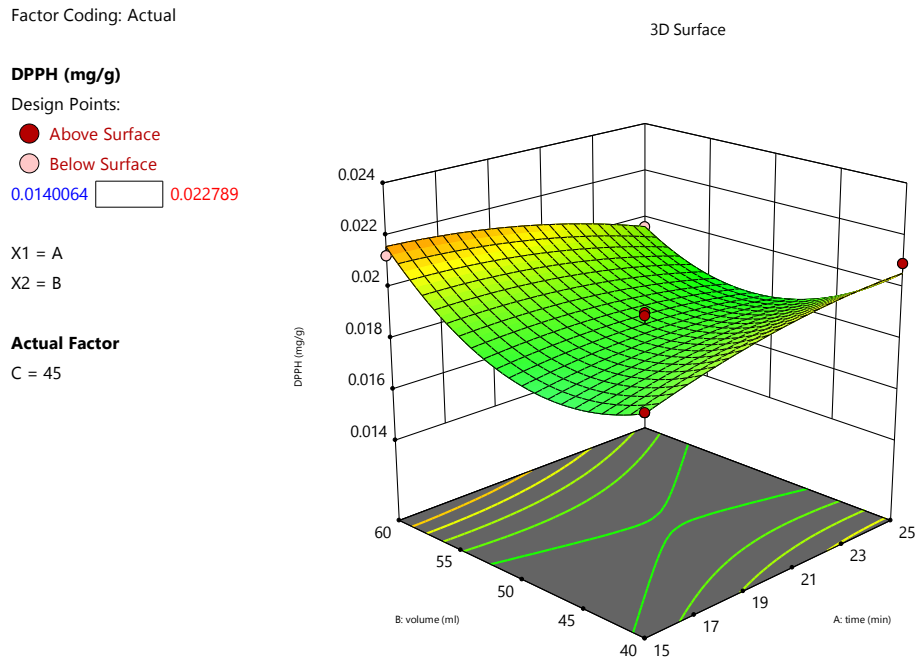
#### III.3.1.6.1 Temps –volume :

Les résultats de cette étude indiquent que l'interaction entre le temps d'extraction et le volume de solvant ( $X_1 X_2$ ) a une influence significative et joue un rôle important dans l'activité de neutralisation du radical DPPH, avec une probabilité de  $p=0,0241$ . Cela signifie que la combinaison du temps d'extraction et du volume de solvant utilisé a un effet remarquable sur l'activité antiradicalaire.

Les résultats obtenus de l'étude de cette interaction sont représentés dans la figure 16. Ils montrent que l'activité de neutralisation du radical DPPH diminue lorsque le volume de solvant varie de 40 à 50 ml et que le temps d'extraction varie de 15 à 21 minutes. Cela suggère qu'il existe une plage spécifique de valeurs pour le volume et le temps d'extraction qui favorisent une activité antiradicalaire optimale.

Cependant, il est important de noter que si l'extraction se poursuit avec des niveaux très élevés pour chaque paramètre, l'activité antioxydante augmente de 0,014 à 0,021 mg EAAC/g de MV. Cela indique qu'une augmentation excessive du volume de solvant ou du temps d'extraction peut entraîner une augmentation de l'activité antiradicalaire.

Ces résultats mettent en évidence l'importance de trouver un équilibre entre le temps d'extraction et le volume de solvant pour optimiser l'activité antiradicalaire.



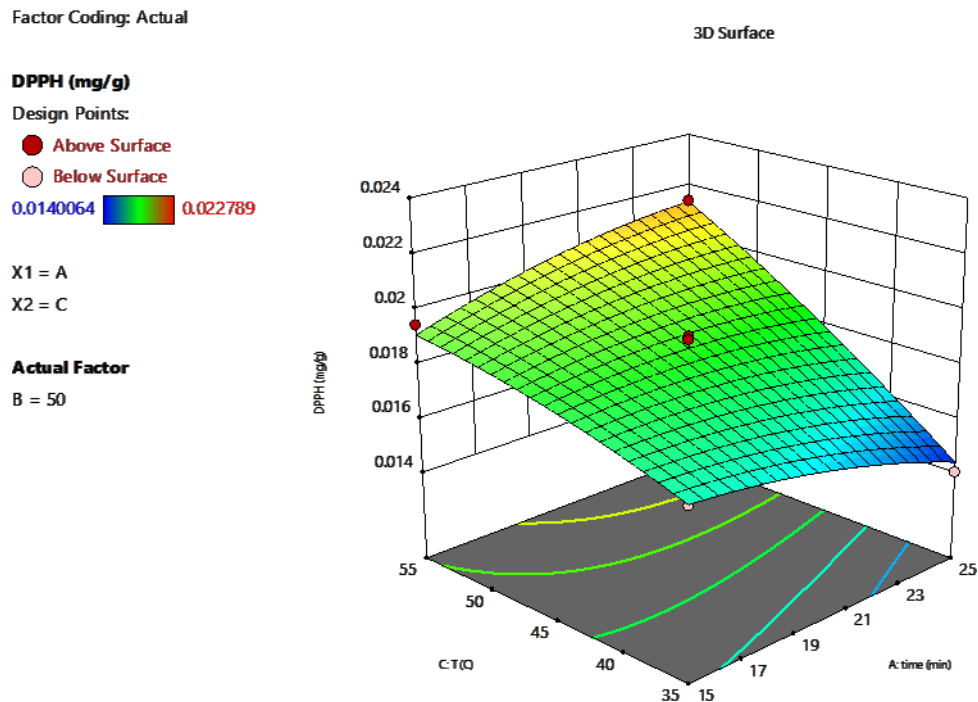
**Figure 4:** Surface de réponse pour les effets temps /volume sur l'activité antiradicalaire DPPH du *Chamomilla pubescens*.

### III.3.1.6.2 Temps –température :

La figure 17 représente la surface de réponse pour l'effet combiné du temps d'extraction et de la température ( $X_1X_3$ ) sur l'activité antioxydante. Les résultats indiquent qu'il existe une interaction significative entre le temps et la température, avec une probabilité supérieure à 0,0102.

L'activité antioxydante a montré une augmentation remarquable lorsque le temps d'extraction varie de 15 à 25 minutes et la température de 35 à 55 °C. Cela signifie que, dans cet intervalle de temps et de température, l'activité antioxydante des échantillons étudiés est plus élevée.

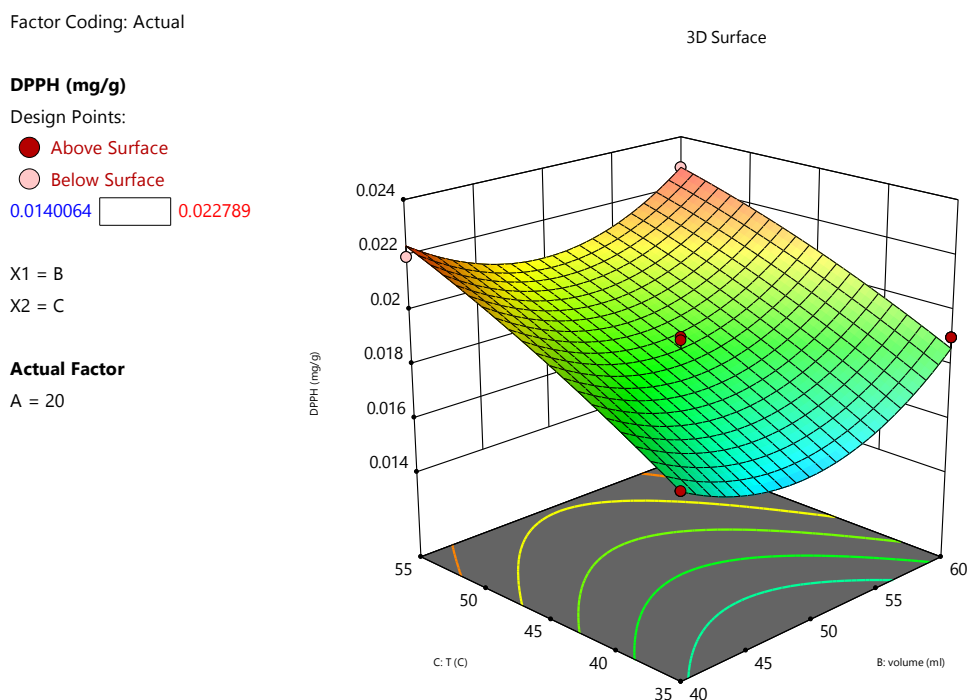
Cependant, il est mentionné que des durées d'extraction plus longues, combinées à une augmentation de la température d'extraction, conduisent à une activité importante. Cela pourrait signifier que lorsque le temps d'extraction dépasse une certaine limite ou que la température augmente au-delà d'un certain point, l'activité antioxydante peut diminuer ou atteindre un plateau.



**Figure 5 :** Surface de réponse pour les effets temps /température sur l'activité antiradicalaire DPPH du *Chamomilla pubescens*.

### III.3.1.6.3 Volume–température :

La figure 18 représente la surface de réponse pour l'effet combiné du volume et de la température ( $X_2X_3$ ) sur l'activité antioxydante. Les résultats indiquent que l'interaction entre le volume et la température n'est pas significative, avec une probabilité supérieure à 0,044. Il est important de noter que l'interaction non significative entre le volume et la température indique que ces deux facteurs n'ont pas d'effet conjoint significatif sur l'activité antioxydante dans cette étude particulière. Cependant, la variation de la température et du volume individuellement semble avoir une influence sur l'activité antioxydante. Cependant, il est noté qu'une augmentation remarquable de l'activité antioxydante a été observée lorsque la température varie de 35 à 55 °C et le volume de 40 à 60 ml. Ce résultat est en accord avec les observations de figure 15 .



**Figure 6:** Surface de réponse pour les effets volume /température sur l'activité antiradicalaire DPPH du *Chamomilla pubescens*.

### III.3.1.7 Solution :

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparaît que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation de l'activité antiradicalaire sont obtenues au sein du domaine expérimental.

**Tableau 7:** Conditions optimales de l'activité antiradicalaire DPPH par ultrason (mg EAAC/g de MV).

Temps d'extraction (min)	Volume (ml)	Température (°C)	Valeur prédite (mg EAAC/g de MV)
<b>25</b>	<b>40,997</b>	<b>53,369</b>	<b>0,023</b>

### III.3.2 Test d'ABTS :

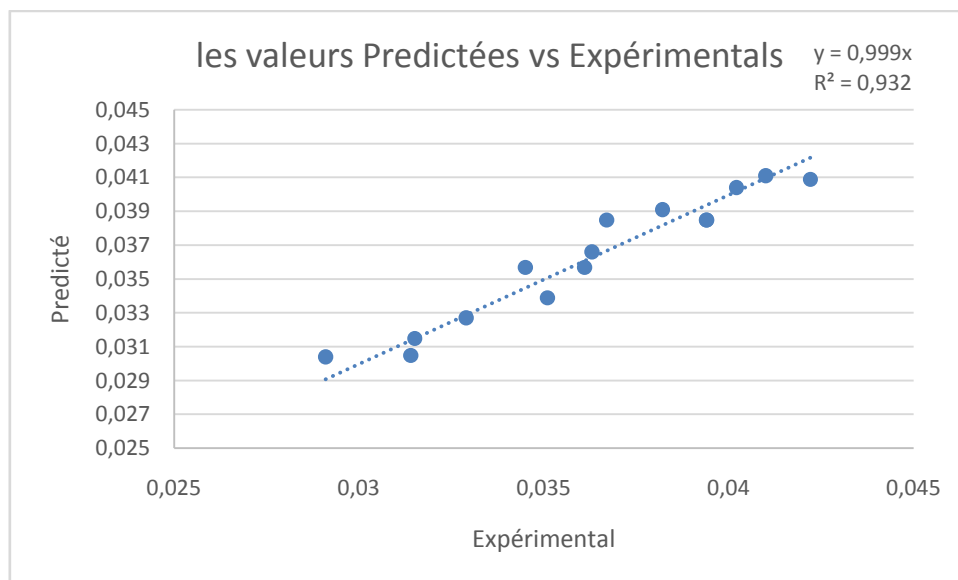
Le test d'activité scavenger sur ABTS repose sur la capacité d'un antioxydant à neutraliser le radical cationique  $ABTS^{+\cdot}$ . Ce test est largement utilisé pour évaluer l'activité antioxydante des substances. Ce radical cationique  $ABTS^{+\cdot}$  est de couleur bleue et son absorbance peut être mesurée à une longueur d'onde spécifique, généralement à 734 nm. Lorsqu'un antioxydant est

présent, il réagit avec le radical cationique  $ABTS^{\cdot+}$  et le neutralise, réduisant ainsi l'absorbance à 734 nm. Ce test est couramment utilisé en recherche et en industrie pour évaluer la capacité antioxydante des substances, telles que les extraits de plantes, les aliments, les produits cosmétiques, etc. Il permet de comparer et de quantifier l'activité antioxydante relative des échantillons testés. La capacité antioxydante des extraits étudiés a été exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide ascorbique par gramme de matière végétal (EAAC).

Les résultats indiquent que tous les extraits étudiés ont montré des activités antioxydantes variant de 0,029 à 0,042 mg EAAC/g de MV, comme indiqué dans le tableau. Cela confirme l'impact des paramètres examinés, tels que le temps, le volume et la température, sur l'activité antioxydante contre le radical  $ABTS^{\cdot+}$ .

### III.3.2.1 Coefficient de corrélation :

L'analyse statistique a démontré que le coefficient de corrélation  $R^2$  et le coefficient d'ajustement sont élevés, atteignant respectivement 0,9377 et 0,8255, se rapprochant de la valeur maximale de 1. De plus, l'insignifiance du manque d'ajustement du modèle a été confirmée avec une valeur de  $p$  inférieure à 0,05. Ces résultats suggèrent que le modèle peut être utilisé avec fiabilité pour prédire les résultats associés à l'activité antioxydante observée (conformément au Tableau4).



**Figure 7:** Graphique des valeurs observées ABTS en fonction des valeurs prévues.

### III.3.2.2 Effet des facteurs (coefficients) :

Les résultats des coefficients de régression estimés du modèle polynomial sont présentés dans le tableau 9.

**Tableau 8:** Coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Terme	Coefficients	Probabilité > t
ABTS		
Constante		
$b_0$	$3,8 \times 10^{-2}$	0,0001*
Linéaire		
$b_1$	$2,38 \times 10^{-4}$	0,6929
$b_2$	$6,77 \times 10^{-4}$	0,2884
$b_3$	$4,56 \times 10^{-3}$	0,0005*
Interaction		
$b_{12}$	$-6,89 \times 10^{-4}$	0,4318
$b_{13}$	$7,36 \times 10^{-4}$	0,4032
$b_{23}$	$-4,48 \times 10^{-4}$	0,6023
Quadratique		
$b_{11}$	$-1,80 \times 10^{-3}$	0,0846
$b_{22}$	$-1,25 \times 10^{-3}$	0,1952
$b_{33}$	$-1,17 \times 10^{-3}$	0,2203

Significatif avec  $p < 0,05$ .

### III.3.2.3 Analyse du modèle mathématique :

Les résultats de l'étude ont permis de déterminer les coefficients significatifs et d'établir la fonction qui régit l'activité anti-ABTS des extraits de *Chamomilla pubescens*. Le modèle mathématique utilisé dans cette étude peut être représenté par la relation suivante :

$$ABTS = 3,8 \times 10^{-2} + 2,38 \times 10^{-4} X_1 + 6,77 \times 10^{-4} X_2 + 6,77 \times 10^{-4} X_3 - 6,89 \times 10^{-4} X_1 X_2 + 7,36 \times 10^{-4} X_1 X_3 - 4,48 \times 10^{-4} X_2 X_3 - 1,80 \times 10^{-3} X_1^2 - 1,25 \times 10^{-3} X_2^2 - 1,17 \times 10^{-3} X_3^2 \quad (\text{Eq. (9)})$$

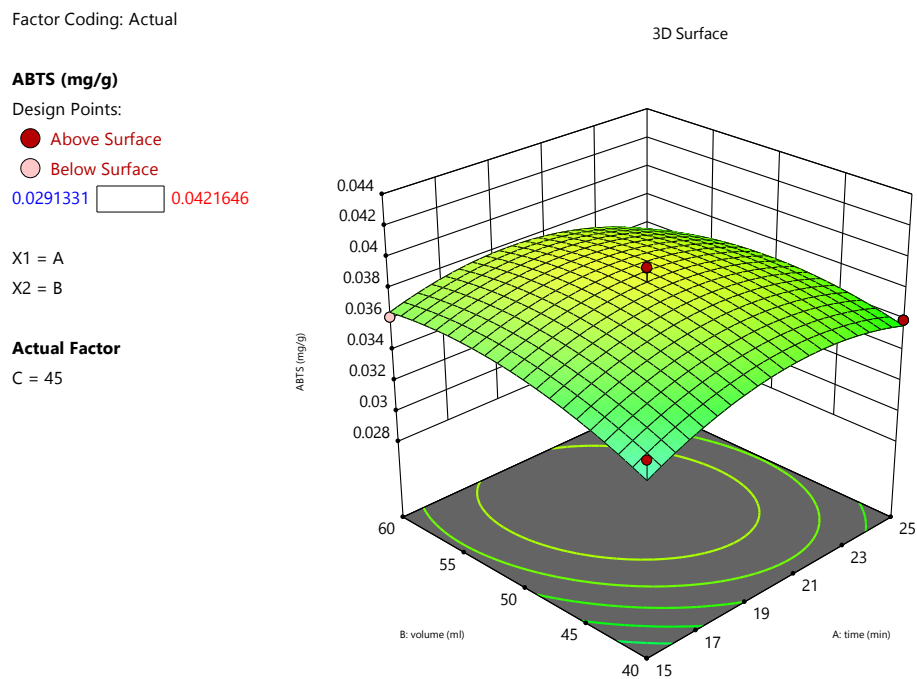
### III.3.2.4 Effet quadratique :

D'après les résultats de l'analyse (Tableau 9), il semble que les effets quadratiques des facteurs étudiés (temps, volume et température) ne sont pas statistiquement significatifs. Cette conclusion suggère que ces facteurs n'ont pas d'effets quadratiques importants sur le piégeage du radical libre ABTS<sup>•+</sup>. En d'autres termes, la variation de ces facteurs au carré n'a pas d'impact significatif sur la capacité du système à piéger le radical libre ABTS<sup>•+</sup>.

### III.3.2.5 Analyse des surfaces de réponse :

#### III.3.2.5.1 Temps–volume :

L'effet du couple temps et volume ( $X_1X_2$ ) n'est pas significatif avec une valeur de p de 0,431. Cela indique qu'il n'y a pas de variation significative dans le piégeage du radical libre  $ABTS^+$  lorsque le temps d'extraction est passé de 15 à 22 minutes et le volume de 40 à 53 ml, dans la plage spécifique étudiée. L'activité antioxydante est passée de 0,029 à 0,042 mg EAG/g, ce qui suggère une augmentation, mais cette augmentation n'est pas statistiquement significative. Cependant, une observation importante est que la tendance s'inverse lorsque le temps d'extraction dépasse une certaine valeur. Plus précisément, lorsque le temps d'extraction était compris entre 22 et 25 minutes et le volume entre 53 et 60 ml, une diminution notable de la quantité de composés extraits a été observée. Cette observation est cohérente avec les résultats présentés dans la figure 20, où une diminution de l'activité antioxydante est visible pour ces combinaisons spécifiques de temps et de volume.



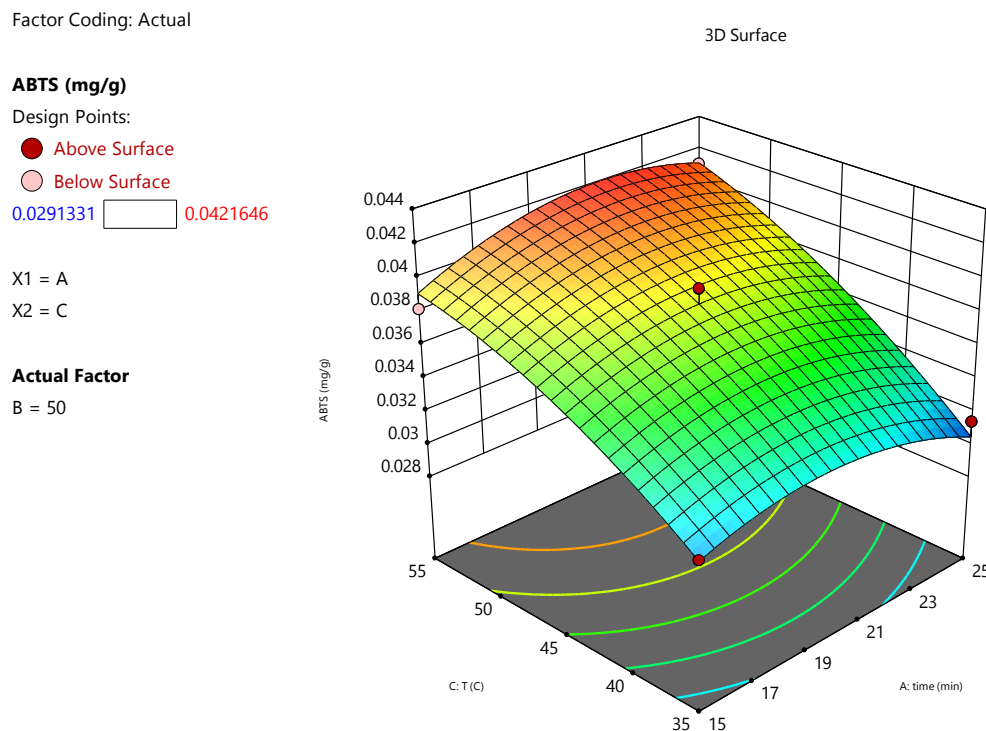
**Figure 20:** Surface de réponse pour les effets temps /volume sur l'activité anti-ABTS du *Chamomilla pubescens*.

#### III.3.2.5.2 Temps–température :

Selon les résultats de l'étude, le couple temps-température ( $X_1X_3$ ) n'a pas d'influence significative sur l'activité antioxydante, comme indiqué par la valeur de p de 0,403. Cela

suggère que les valeurs de temps et de température utilisées dans l'étude n'ont pas un impact statistiquement significatif sur le piégeage du radical libre ABTS<sup>•+</sup>.

Cependant, il est important de noter que la figure présentée montre la surface de réponse, qui illustre l'effet combiné du temps et de la température (X<sub>1</sub>X<sub>3</sub>) sur le piégeage du radical libre ABTS<sup>•+</sup>. Les résultats suggèrent que l'augmentation du temps d'extraction dans la plage de 15 à 22 minutes et l'augmentation de la température dans la plage de 35 à 55°C peuvent être bénéfiques pour obtenir une activité antioxydante accrue dans le piégeage des radicaux libres ABTS<sup>•+</sup>. Ce qui est compatible avec les résultats de figure 21.



**Figure 21:** Surface de réponse pour les effets temps /température sur l'activité anti-ABTS de *Chamomilla pubescens*.

### III.3.2.5.3 Volume –température :

La figure 22 montre la surface de réponse qui présente l'effet de volume et la température (X<sub>2</sub>X<sub>3</sub>) sur l'activité antioxydante. Les résultats obtenus indiquent que l'interaction volume-température est non significative avec la probabilité supérieure à 0,602. Une augmentation remarquable de l'activité antioxydante a été constatée lorsque la température varie de 35 à 55 °C et le volume de 40 à 55 ml. Ce résultat est en accord avec les observations de figure 22.

Factor Coding: Actual

**ABTS (mg/g)**

Design Points:

● Above Surface

○ Below Surface

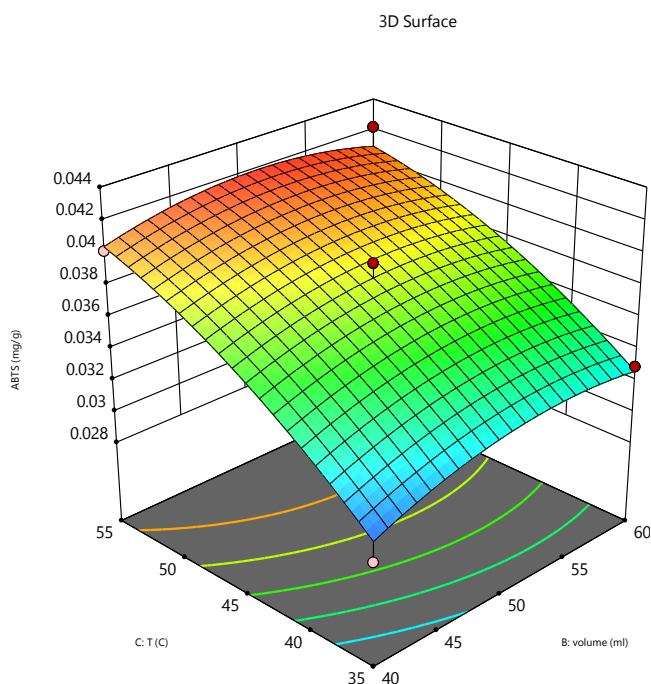
0.0291331  0.0421646

X1 = B

X2 = C

**Actual Factor**

A = 20



**Figure 22:** Surface de réponse pour les effets volume /température sur l'activité anti-ABTS du *Chamomilla pubescens*.

### III.3.2.6 Solution :

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparaît que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation de l'activité antioxydante sont obtenues au sein du domaine expérimental.

**Tableau 9:** Conditions optimales de l'activité anti-ABTS par ultrason (mg EAAC/g de MV).

Temps d'extraction (min)	Volume (ml)	Température (°C)	Valeur prédite (mg EAAC/g de MV)
<b>21</b>	<b>50,195</b>	<b>55</b>	<b>0,042</b>

# **Conclusion**

### IV. Conclusion :

Il est intéressant de noter que ces dernières années, de nombreux chercheurs se sont tournés vers les composés biologiquement actifs présents dans les extraits de plantes, considérés comme de véritables sources naturelles de substances potentiellement bénéfiques. Parmi ces plantes, *Chamomilla pubescens* se distingue par sa richesse en composés phénoliques.

Afin d'optimiser l'extraction de ces composés, les chercheurs ont utilisé la technique de l'extraction assistée par ultrasons. L'extraction par ultrasons permet d'augmenter le rendement d'extraction en un temps plus court, réduisant ainsi la consommation d'énergie et la dégradation des composés phénoliques.

D'après la description de l'étude, celle-ci vise à contribuer à l'optimisation des conditions d'extraction des antioxydants à partir de la plante *Chamomilla pubescens*. Les composés phénoliques présents dans les extraits de la matière végétale sont dosés afin d'évaluer l'efficacité de l'extraction.

Le modèle expérimental de l'étude est divisé en deux parties. Tout d'abord, des essais préliminaires sont réalisés en faisant varier un paramètre à la fois tout en maintenant les autres paramètres constants. Ces essais préliminaires sont effectués sur la matière végétale des extraits du *Chamomilla pubescens*.

Les modèles obtenus dans cette étude sont statistiquement significatifs, avec une valeur de  $p$  inférieure à 0,05. Cela indique qu'il existe une relation significative entre les paramètres d'extraction et la réponse mesurée (dosage des composés phénoliques et activités antioxydantes). De plus, les modèles présentent une corrélation satisfaisante entre les valeurs mesurées et les valeurs ajustées. Le coefficient de détermination ( $R^2$ ) est de 90,00%, ce qui signifie que 90,00% de la variation observée dans la réponse peut être expliquée par les modèles.

Le plan box-Benken a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction ; composés phénolique (température 54,927°C à un volume méthanol 59,981ml pendant un temps d'extraction de 25 min); l'activité antiradicalaire (DPPH)(température 53,369 °C à un volume méthanol 40,997 ml pendant un temps d'extraction de 25min) et le piégeage du radical libre ABTS (température 55°C à un volume méthanol 50,195ml pendant un temps d'extraction de 21 min).

Pour compléter les résultats de l'étude, plusieurs approches peuvent être envisagées :

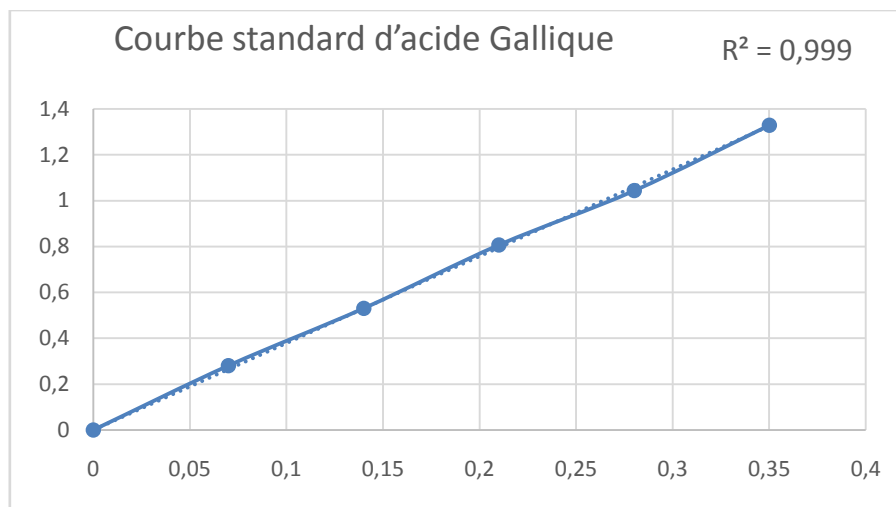
- ✚ Optimiser d'autres paramètres : En plus des paramètres déjà étudiés, il peut être intéressant d'explorer d'autres paramètres qui pourraient influencer le taux d'extraction des polyphénols. Par exemple, la concentration du solvant d'extraction, le pH, la taille des particules de matière végétale, ou l'utilisation d'enzymes ou de co-solvants pourraient être pris en compte. En optimisant ces paramètres supplémentaires, il est possible d'améliorer encore davantage le rendement d'extraction des polyphénols.
- ✚ Élargir l'échantillonnage et analyser l'effet de l'origine géographique : Pour obtenir une vue plus globale de la composition en antioxydants et de leur activité biologique, il peut être intéressant d'élargir l'échantillonnage en incluant des échantillons provenant de différentes régions géographiques. Cela permettrait d'évaluer l'effet de l'origine géographique sur la composition des extraits et sur leur activité biologique.
- ✚ Utiliser des techniques d'analyses plus performantes : Pour caractériser plus précisément la composition des extraits, l'utilisation de techniques analytiques avancées telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et la résonance magnétique nucléaire (RMN) peut être envisagée. Ces techniques permettent une séparation, une identification et une quantification précises des différents composés présents dans les extraits. Cela permettrait de mieux comprendre la composition des extraits et d'identifier spécifiquement les polyphénols présents.

## Références

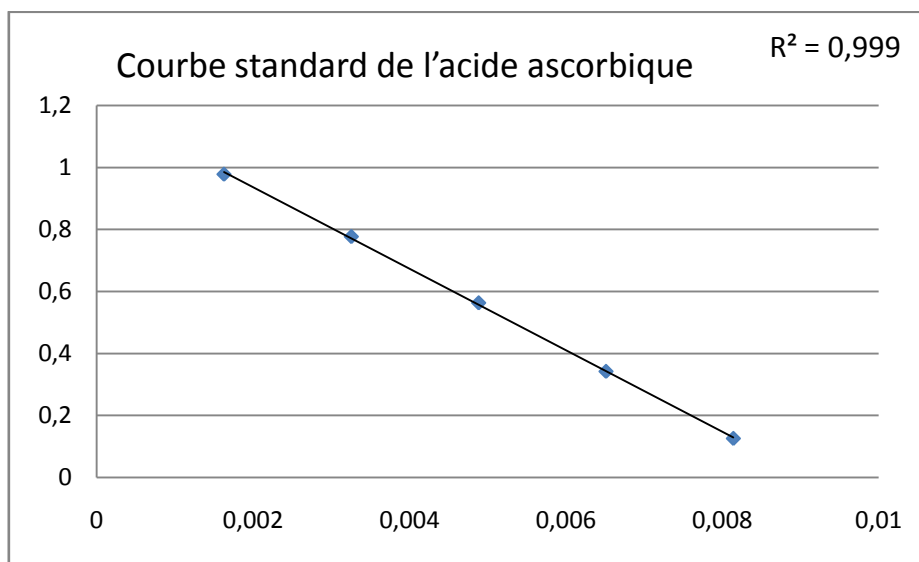
1. Rasul, M.G., *Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages*. Int. J. Basic Sci. Appl. Comput, 2018. **2**: p. 10-14.
2. M'Hiri, N., *Étude comparative de l'effet des méthodes d'extraction sur les phénols et l'activité antioxydante des extraits des écorces de l'orange «Maltaise demi sanguine» et exploration de l'effet inhibiteur de la corrosion de l'acier au carbone*. Tunis: INAT, 2015.
3. Ahmed, Z.B., et al., *Determination of optimal extraction conditions for phenolic compounds from Pistacia atlantica leaves using the response surface methodology*. Analytical methods, 2016. **8**(31): p. 6107-6114.
4. Houssein, E.H., et al., *Major advances in particle swarm optimization: theory, analysis, and application*. Swarm and Evolutionary Computation, 2021. **63**: p. 100868.
5. Yu, Z.-X., et al., *Simultaneous optimization of ultrasonic-assisted extraction of Danshen for maximal tanshinone IIA and salvianolic acid B yields and antioxidant activity: A comparative study of the response surface methodology and artificial neural network*. Industrial Crops and Products, 2021. **161**: p. 113199.
6. Ahmed, Z.B., et al., *Four Pistacia atlantica subspecies (atlantica, cabulica, kurdica and mutica): A review of their botany, ethnobotany, phytochemistry and pharmacology*. Journal of Ethnopharmacology, 2021. **265**: p. 113329.
7. Babotă, M., et al., *Optimized ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Thymus comosus Heuff. ex Griseb. et Schenk (wild thyme) and their bioactive potential*. Ultrasonics Sonochemistry, 2022. **84**: p. 105954.
8. Gil-Martín, E., et al., *Influence of the extraction method on the recovery of bioactive phenolic compounds from food industry by-products*. Food Chemistry, 2022. **378**: p. 131918.
9. Cañadas, R., et al., *Overview of neoteric solvents as extractants in food industry: A focus on phenolic compounds separation from liquid streams*. Food Research International, 2020. **136**: p. 109558.
10. Tena, N. and A.G. Asuero, *Up-to-date analysis of the extraction methods for anthocyanins: Principles of the techniques, optimization, technical progress, and industrial application*. Antioxidants, 2022. **11**(2): p. 286.
11. Priego-Capote, F., *Solid-liquid extraction techniques*, in *Analytical sample preparation with nano-and other high-performance materials* 2021, Elsevier. p. 111-130.
12. Castellanos-Gallo, L., et al., *Grape pomace valorization by extraction of phenolic polymeric pigments: A review*. Processes, 2022. **10**(3): p. 469.
13. Venkatesan, T., Y.-W. Choi, and Y.-K. Kim, *Impact of different extraction solvents on phenolic content and antioxidant potential of Pinus densiflora bark extract*. BioMed Research International, 2019. **2019**.
14. Fonseca, J.M., et al., *Post-production stability of parthenolide in feverfew (Tanacetum parthenium)*. Journal of herbs, spices & medicinal plants, 2007. **12**(1-2): p. 139-152.
15. Dejaegher, B. and Y. Vander Heyden, *Experimental designs and their recent advances in set-up, data interpretation, and analytical applications*. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2011. **56**(2): p. 141-158.
16. Alara, O.R., N.H. Abdurahman, and C.I. Ukaegbu, *Extraction of phenolic compounds: A review*. Current Research in Food Science, 2021. **4**: p. 200-214.
17. Hibbert, D.B., *Experimental design in chromatography: a tutorial review*. Journal of chromatography B, 2012. **910**: p. 2-13.

18. Maran, J.P., et al., *Artificial neural network and response surface methodology modeling in mass transfer parameters predictions during osmotic dehydration of Carica papaya L.* Alexandria Engineering Journal, 2013. **52**(3): p. 507-516.
19. Myers, R.H., et al., *Response surface methodology: a retrospective and literature survey.* Journal of quality technology, 2004. **36**(1): p. 53-77.
20. Dean, A. and D. Voss, *Design and analysis of experiments* 1999: Springer.
21. Vander Heyden, Y. and D. Massart, *Review of the use of robustness and ruggedness in analytical chemistry.* Data handling in science and technology, 1996. **19**: p. 79-147.
22. Vander Heyden, Y., et al., *Guidance for robustness/ruggedness tests in method validation.* Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, 2001. **24**(5-6): p. 723-753.
23. Sridevi, V., *Biosorption of methylene blue by spent biomass of Aspergillus terreus using response surface methodology.* International Journal of Pharma and Bio Sciences, 2013. **4**(4).
24. Yang, L., et al., *Response surface optimization of ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of Citrus aurantium L. var. amara Engl.* Journal of separation science, 2010. **33**(9): p. 1349-1355.
25. Orwa, J., et al., *Liquid chromatographic method for separation of lincomycin from its related substances.* Journal of Chromatography A, 1998. **829**(1-2): p. 161-166.
26. Ragonese, R., M. Mulholland, and J. Kalman, *Full and fractionated experimental designs for robustness testing in the high-performance liquid chromatographic analysis of codeine phosphate, pseudoephedrine hydrochloride and chlorpheniramine maleate in a pharmaceutical preparation.* Journal of Chromatography A, 2000. **870**(1-2): p. 45-51.
27. Chehema, A. and M.R. Djebar, *Les espèces médicinales spontanées du Sahara septentrional algérien: distribution spatio-temporelle et étude ethnobotanique.* Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie, 2008. **17**: p. 36-45.
28. Chehema, A., *Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien* 2019: Éditions universitaires européennes.
29. Hefied, F., Z.B. Ahmed, and M. Yousfi, *Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds and antioxidant activities From Pistacia atlantica Desf. galls using response surface methodology.* Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2023. **32**: p. 100449.
30. Santos, L.G. and V.G. Martins, *Optimization of the green extraction of polyphenols from the edible flower Clitoria ternatea by high-power ultrasound: a comparative study with conventional extraction techniques.* Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants, 2023. **34**: p. 100458.
31. Ahmed, Z.B., et al., *Defining a standardized methodology for the determination of the antioxidant capacity: case study of Pistacia atlantica leaves.* Analyst, 2020. **145**(2): p. 557-571.

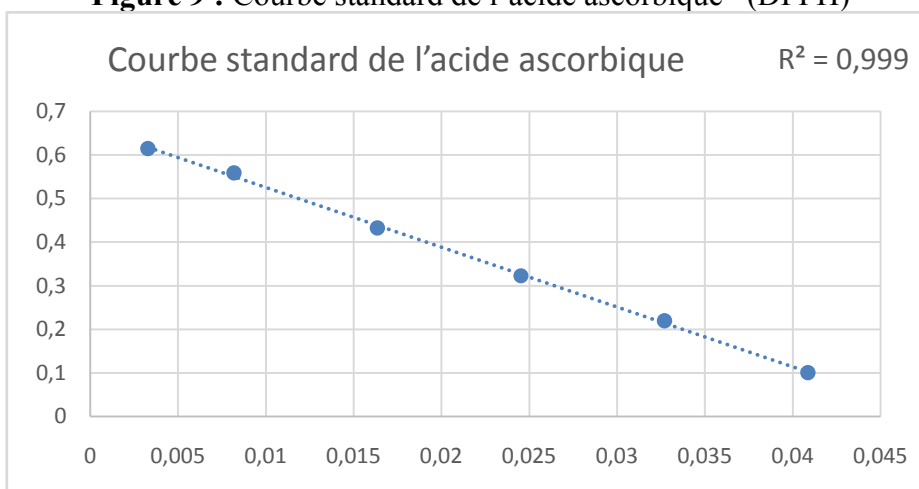
## Annexes



**Figure 8 :** Courbe standard d'acide Gallique



**Figure 9 :** Courbe standard de l'acide ascorbique (DPPH)



**Figure 10 :** Courbe standard de l'acide ascorbique (ABTS)

## ملخص

قمنا في هذه الدراسة باستخراج البوليفينول من ازهار نبتة (*Chamomilla pubescens*) باستخدام طريقة الاستخراج بالموجات فوق الصوتية. باستخدام طريقة متعددة المتغيرات لمنهجية استجابة السطح مع تصميم Box-Behnken سمحت لنا بتحسين ثلاثة متغيرات ( درجة الحرارة , الوقت , حجم الميثانول ). للحصول على أعظم كمية للمركبات الفينولية (ك.م.ف) وكذا أحسن تفاعل مضاد الأكسدة ل DPPH و ABTS .

تشير النتائج أنه بالنسبة ل (ك.م.ف) وذلك عند درجة الحرارة ( 54,927 °C ), وقت الاستخلاص ( 25 دقيقة). حجم الميثانول ( 59,981 مل) كانت قيمة الفينول المتحصل عليها ( 22,576 ملغ EAG / غرام من المادة ال نباتية) . وقمنا باختبار تقييم مضادات الأكسدة ( DPPH , ABTS ) .

أما عن الظروف المثلى لنشاطات الأكسدة فهي كالتالي بالنسبة ل DPPH درجة الحرارة ( 53,369 °C ), وقت الاستخلاص ( 25 دقيقة ), حجم الميثانول ( 40,997 مل ) في هذه الظروف كانت قيمة المكافئة للتنشيط ( 0,023 ملغ EAAC / غرام من المادة النباتية). بالنسبة ل ABTS كانت : عند درجة الحرارة ( 55 °C ), وقت الاستخلاص ( 21 دقيقة ), حجم الميثانول ( 50,195 مل) وصلت القيمة عند هذه الظروف إلى ( 0,042 ملغ EAAC / غرام من المادة النباتية).

## Résumés

Dans cette étude, nous avons extrait les polyphénols des fleurs de plante (*Chamomilla pubescens*) en utilisant un procédé d'extraction par ultrasons. L'utilisation de la méthode multivariée de Méthodologie de surface de Réponse par le plan d'expérience Box-Behnken nous permet d'optimiser trois variables (température, temps et volume de méthanol). Afin d'obtenir le meilleur rendement en Teneur des Composés Phénoliques TCP; ainsi que les meilleures activités antioxydantes pour le DPPH et l'ABTS.

Les résultats indiquent que pour la TCP à la Température (54,927 °C), temps d'extraction (25 min), volume de méthanol (59,981 ml); La valeur de phénol a été atteinte (22,576 mg EAG/g de MV). Et nous avons testé l'évaluation des antioxydants (DPPH, ABTS).

Les conditions optimales pour l'activité antioxydants sont comme suivantes : pour DPPH : la température (53,369 °C), le temps d'extraction (25 min), le volume de méthanol (40,997 ml) dans ces conditions, la valeur équivalente d'inhibition était (0,023 mg EAAC/g de MV), et pour l'ABTS étaient : à la température (55 °C), le temps d'extraction (21 min), le volume de méthanol (50,195 ml) la valeur atteinte dans ces conditions (0.042 mg EAAC/g de MV).

## Abstract

In this study, we extracted polyphenols of the flowers of the plant (*Chamomilla pubescens*) using ultrasonic extraction process. The use of Response surface Methodology multivariate method by Box-Behnken design allows us to optimize three variables (temperature, time and volume of methanol). In order to obtain the best yield of Total Phenolic Compounds TPC; as well as the best antioxidants activities for both DPPH and ABTS.

The results indicate that for TPC at Temperature (54.927 °C), extraction time (25 min), volume of methanol (59.981 ml), The phenol value has been reached (22.576 mg EAG/g of plant matter). And we tested the evaluation of antioxidants (DPPH, ABTS).

The optimal conditions for antioxidant activities were: for DPPH the temperature (53.369°C), extraction time (25 min), volume of methanol (40.997 ml), on these conditions the equivalent inhibition value was (0.023 mg EAAC/g of plant matter), while for ABTS was: at the temperature (55°C), extraction time (21 min), volume of methanol ( 50.195 ml), the value reached under these conditions (0.042 mg EAAC/g of plant matter).