

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة عمّار ثليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOuat

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT Sciences de la Matière



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : Chimie Organique Appliquée

Par :

M^{lle} Ben Adda Nourelhouda

M^{me} Djoudi Hassna Amel

THEME

Etude des conditions d'extraction des polyphénols d'*Ammi visnaga* par un plan d'expérience

Soutenu publiquement devant le jury composé de :

Mr. GUIBADJ Abdenacer

Pr

Président

Mr. BENAHMED Ziyad

M.C.A

Examineur

Mr. SAIDAT Abou Baker

Pr

Examineur

Mme. AMI Yasmina

M.A.A

Promotrice

Année Universitaire 2018- 2019

Remerciment

Nous commencerons par remercier et rendre grâce à Dieu tout puissant pour nous avoir donnée le courage et la volonté de mener à bon terme ce travail.

Ce travail n'aurait pu se faire seul ! Ce sont les compétences, La disponibilité, le dynamisme, la bonne humeur et la patience Qui nous ont permis de poursuivre nos études Et d'achever ce mémoire dans les meilleures conditions.

C'est pourquoi nous tenons chaleureusement à remercier :

Nos premiers remerciements vont à notre promotrice Mme : AMI YASMINA, et Monsieur BENAHMED ZIYAD, qui ont suivi et veillé sur le bon déroulement de ce travail avec leurs conseils et leurs remarques constitutives.

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

Nous remercions également Mr. BENAHMED ZIYAD et Mr. SAIDAT ABOU BAKER d'avoir acceptés de juger ce travail et pour son aide et ces précieux conseils. Nous remercions également tous les enseignants qui ont contribué à notre formation durant notre cursus universitaire Sans oublier MR.: HAMDI AHMED le chef de département de science de la matière.

Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribué de près Ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Merci beaucoup

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon

*Très chère père **BOUZID***

Qui m'a toujours soutenu, et qu'a été

Toujours présent pour

Moi

A la plus chère au monde,

*Ma mère **SAIDA** qui a*

Toujours m'encouragé durant

Mes études

*A ma sœur **Hassna***

A mes frères

Safia, Nacira, Nacer, Fatima

*A ma famille **Benadda et Halimi***

A toutes mes amies et surtout

Oumelkheir, Karima, Zahira, Souad, Nafissa, Hanane, Saida, Sahla, Farida et

Nadjia et Malika, Halima et Dalila.

A toute personne qui me connait

NOURELHOUDA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mon

*Très chère père **MOHAMED***

Qui m'a toujours soutenu, et qu'a été

Toujours présent pour moi

A la plus chère au monde,

*Ma mère **HAMIDA** qui a*

Toujours m'encouragé durant mes études

*Ma grand-mère : **Hadja Keltoum***

*À mes chères frères : **Abdel lazziz, Omar, Radouane***

*A ma chère sœur : **Keltoum***

*A mon mari **Mouad** qui m'a beaucoup encouragée tout au long de ce travail.*

Merci d'avoir montré beaucoup de patience avec moi durant les moments les

Plus stressants, merci pour ta fidélité et ta gentillesse.

*A mes chères enfants **Kossay, Rafif***

*À Mon encadreur **Ami Yasmine** Pour ces conseils, sa présence, et sa patience*

*À mon binôme **Nour el houda** j'ai partagée avec elle les joies et les*

difficultés au suivi

De notre travail.

*À toutes ma famille : **Khouiled***

*Mon beau père : **djeloul***

*Ma belle-mère : **Daoya***

*Mes chers frères : **Houdaifa, Mohamed, Anfal***

Hassna

Liste des abréviations

ERO : Espèces réactives de l'oxygène.

UAE : Extraction assistée par Ultrason.

MSR : Méthode de surface de réponse.

MPE : Méthode des plans d'expériences.

PBB : Plan de Box-Behnken .

ANOVA : Analyse de variance.

CPT : Composés phénoliques totaux.

Na₂CO₃ : Carbonate de sodium.

MeoH : Méthanol.

FVT : Flavonoïdes totaux.

AlCl₃ : Trichlorure d'aluminium.

DPPH : 2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl.

CEAAC : Capacité antioxydante a été exprimé en mg d'équivalente d'acide ascorbique.

BBD : Plan de Box-Behnken design.

EAG : Equivalent acide gallique.

MS : Matière sèche .

EQ : Equivalent quercétine .

R² : Coefficient de corrélation.

R² Adj : Coefficient de corrélation ajusté.

pH : Potentiel d'hydrogène.

ORAC : Capacité d'absorbance du radical de l'oxygène.

TRAP : Total Radical-Trapping Antioxidant Parameter.

ABTS : Acide 2,2'-azino -bis-(3-ethylbenzothiizoline-6-sulfonique).

Listes des figures

Figure	Titre	Page
01	Echelle des ondes élastiques.	04
02	Schéma de cavitation ultrasonique.	05
03	Groupement phénol.	06
04	Structure de base des flavonoïdes.	07
05	Surface de réponse formée par l'ensemble des réponses correspondant à tous les points du domaine d'étude.	9
06	Représentation schématique d'un domaine d'étude.	9
07	Représentation graphique des points expérimentaux du plan de Box et Behnken à trois facteurs.	11
08	Photo prise dans la nature (<i>Ammi visnaga</i>).	14
09	Echantillon de l' <i>A. visnaga</i> .	18
10	Courbe standard d'acide Gallique.	20
11	Courbe standard de Quercétine.	22
12	Photo décrit le changement de la couleur du DPPH.	23
13	Courbe standard de l'acide ascorbique.	24
14	Effet de différents temps d'extraction sur les CPT.	25
15	Effet de différents volume sur l'extraction des CPT.	27
16	Effet de différentes masses sur CPT.	28
17	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	30
18	Surface de réponse pour les effets volume/temps (A), la masse/temps(B) et volume/masse (C) sur le rendement des composés phénolique.	33
19	Combinaison optimale pour une meilleure extraction des CPT.	34
20	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	35
21	Surface de réponse pour les effets volume/temps (A), la masse/temps(B) et volume/masse (C) sur le rendement des composés flavonoidiques des extraits.	37
22	Combinaison optimale pour une meilleure extraction des FVT.	39
23	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	40
24	Surface de réponse pour les effets volume/temps (A), la masse/temps (B) et volume/masse (C) sur l'activité scavenger DPPH des extraits.	42
25	Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	44

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs.	12
02	Classification botanique de l'Ammi visnaga.	15
03	Compositions chimiques des familles de l'A. visnaga.	16
04	Domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation des composés phénoliques.	28
05	Matrice expérimentale de Box-Behnken pour trois facteurs (X1, X2 et X3) et leurs réponses CPT, FVT et DPPH, exprimé en (mg/g matière sèche).	29
06	Analyse de la variance des modèles polynomiaux de second ordre.	30
07	Coefficients de régression et leurs significations statistiques.	31
08	Coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.	36
09	Coefficients de régression et leurs significations statistiques.	41

SOMMAIRE

Remerciements	
Dédicaces	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	2

I. Synthèse bibliographiques

I.1. Méthodes de préparation des plantes médicinales	3
I. 1. Extraction solide-liquide	3
I.2 Extraction assistée par Ultrason (UAE).....	3
I.3. Composés phénoliques	6
I.3.1. Utilisations des phénols.....	6
I.4. Flavonoïdes	7
I.2. Méthode de surface de réponse (MSR).....	8
I. 2.1 Méthodologie des plans d'expériences.....	8
I. 2.2 Domaine d'étude.....	9
I.2.3 Modélisation et optimisation.....	10
I.2.4 Plans pour surface de réponse.....	10
I. 2.4.1 Plans de Box-Behnken (BB).....	10
I. 2.4.2 Plan de Box-Behnken à trois facteurs.....	10
I. 2.5 Notion de modélisation mathématique.....	12
I. 2.6 Modèle de l'expérimentateur.....	13
I.2.7 Matrice d'expérience.....	13
I. 2.8 Analyse statistique.....	13
I. 2.9 Analyse de la variance (ANOVA).....	13
I.3. Plante <i>Ammi visnaga</i> (khella).....	14
I. 3.1 Historique.....	14
I. 3.2 Description de plante.....	14
I. 3.2.1 Classification botanique ou taxonomique.....	14
I.3.2.2. Habitat et répartition.....	15
I. 3.3 Composition chimique.....	15
I. 3.4 Action pharmacologique.....	16
I.3.5 Utilisation d' <i>A.visnaga</i>	16

Matériels et méthodes

II.1. Matériel végétal.....	18
II.2. Préparation des extraits.....	18
II.2.1. Etude préliminaire.....	18
II.3. Dosage de la teneur des polyphénols totaux.....	19
II.3.1 Mode opératoire	19
II.4. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT).....	21
II.4.1. Mode opératoire	21
II.5. Test DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....	22
II.5.1. Principe.....	22
II.5.2. Mode opératoire.....	22
II.6. Analyse statistique.....	24

Résultats et discussions

III.1. Extraction des composés phénoliques par ultrason.....	25
III.1.1 Etudes préliminaires.....	25
III.1.1.1 L'effet de différents temps d'extraction.....	25
III.1.1.2 L'Effet de volume de solvant.....	26
III.1.1.3 L'Effet de masse.....	27
III.2. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénolique totaux.....	28
III.2.1. Plan d'expérience Box-Behnken.....	28
III.2.2. Validation du modèle.....	29
III.2.3. Modèle mathématique.....	30
III.2.4. Effet des facteurs (coefficients).....	30
III.2.4.1. Effet linéaire.....	31
III.2.4.2. Effet quadratique.....	31
III.2.5. Analyse des surfaces de réponse.....	31
III.2.5.1. Temps –volume (X1*X2).....	31
III.2.5.2. Temps- masse (X1*X3).....	32

III.2.5.3. Volume-masse (X2*X3)	32
III.2.5.4 Validation des conditions optimales d'extraction selon le profileur de prévision.....	33
III.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés flavonoidiques.....	34
III.3.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides.....	34
III.3.2. Coefficient de corrélation.....	35
III.3.3. Effet des facteurs (coefficients).....	35
III.3.4. Analyse du modèle mathématique.....	36
III.3.4.1. Effet linéaire.....	36
III.3.4.2. Effet quadratique.....	36
III.3.4.3. Temps –volume (X1*X2).....	37
III.3.4.4. Temps –masse (X1*X3).....	38
III.3.4.5. Volume-masse (X2*X3).....	38
III.3.5. Paramètres optimaux.....	38
III.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante.....	40
III.4.1. L'activité scavenger sur le radical DPPH.....	40
III.4.2. Coefficient de corrélation.....	40
III.4.2.1.Effet des facteurs (coefficients).....	41
III.4.3. Analyse du modèle mathématique.....	41
III.4.3.1. Effet linéaire.....	41
III.4.3.2. Effet quadratique.....	41
III.4.3.3. Analyse des surfaces de réponse.....	43
III.4.3.3.1. Temps –volume (X1*X2).....	43
III.4.3.3.2. Temps –masse (X1*X3).....	43
III.4.3.3.3. Volume-masse (X2*X3).....	43
III.4.4. Conditions optimales	43
Conclusion générale.....	45
Références bibliographiques.....	47
Résumés	

Introduction générale

Les produits pharmaceutiques et de la thérapie chimiques peuvent présenter un risque contre l'équilibre de la santé de l'homme, par leurs effets secondaires en résultant d'autres maladies. De ce fait, l'homme a souvent eu recours à la médecine traditionnelle qui présente généralement moins de toxicité, moins de contre-indications et peu de risques de sur dosage, qui est basée sur l'utilisation des plantes médicinales et leurs substances actives [1].

Depuis quelques années, le monde des sciences biologiques et médicales est envahi par un nouveau concept, celui du « stress oxydatif », c'est-à-dire d'une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des radicaux oxygénés toxiques, situation que les chercheurs impliquent dans la plupart des maladies humaines. La pollution, le tabagisme, l'alcoolisme, la prise des contraceptifs, l'exposition prolongée au soleil ou à des radiations, la pratique du sport de haut niveau et l'inflammation chronique sont des sources de production des espèces réactives de l'oxygène (ERO) [2].

Plus de 80 % de la population des pays en voie de développement ont recourt presque exclusivement à la médecine traditionnelle pour leurs besoins de santé primaire. En plus, dans le monde, près de 25% des prescriptions sont à base de plantes. Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie: en alimentation, en cosmétologie et en dermopharmacie. Parmi ces composés on retrouve dans une grande mesure les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique [3].

En Algérie, l'industrie pharmaceutique, mais également des médecins et des chimistes cherchent à mieux connaître le patrimoine des espèces spontanées utilisées en médecine traditionnelle. Leurs modes d'utilisation, leurs indications dans diverses pathologies ainsi que les principes actifs sont étudiés depuis plusieurs années [4, 5, 6].

L'Algérie par sa position biogéographique offre une très grande diversité écologique et floristique, estimé à plus de 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques reste très peu explorée sur le plan phytochimique comme sur le plan pharmacologique [7].

Dans le but d'étudier les effets thérapeutiques ainsi que la phytochimie de quelques plantes médicinales Algériennes nous nous sommes intéressés à l'étude de la plante *Ammi visnaga*.

Ammi visnaga (*khella*) est l'une des plantes médicinales les plus utilisées à travers le monde dans la médecine traditionnelle, est une plante douée d'activité antispasmodique et est préconisée lors de crampes d'estomac, de calculs rénaux, de coliques néphrétiques et de douleurs au niveau du tractus urinaire . En Algérie, comme dans tous les pays du Maghreb et les pays en voie de développement, le recours à la médecine traditionnelle est largement rependue [8].

L'objectif du présent travail est basé sur l'évaluation in vitro de l'activité antioxydante d'*Ammi visnaga* en utilisant la méthode de piégeage du radical libre DPPH'

La présente étude a pour objectif d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques totaux (CPT) par méthode UAE à partir des feuilles de *A. visnaga* en utilisant des plans d'expérience permettant la modélisation mathématique pour obtenir les conditions optimales et pouvoir expliquer l'interaction des paramètres expérimentaux sur l'extraction.

-La première partie de ce travail concerne tout d'abord la synthèse bibliographique, qui

Comporte la présentation de méthode d'extraction UAE. Elle est suivie par une

Synthèse des principaux travaux phytochimiques antérieurs et des études réalisées sur les propriétés biologiques relatives à *l'A.visnaga*.

La deuxième partie traite est consacrée aux matériels et méthodes utilisés, suivit des résultats expérimentaux et discussion.

-Une conclusion générale ainsi que des perspectives de recherche sont apportées pour

Compléter le présent travail.

Actuellement, la phytothérapie est très répandue dans la médecine basée sur l'utilisation des plantes ayant des propriétés thérapeutiques. Ces plantes sont désignées par la matière première naturelle servant à la fabrication des médicaments dite drogue végétale [9].

I. Méthodes de préparation des plantes médicinales

La préparation des plantes médicinales s'effectue par plusieurs méthodes qui dépendent de type des maladies à traiter, des principes actifs ou selon la partie de la plante utilisée (cultivée ou sauvage).

Une grande variété de technologies d'extraction est apparue selon la complexité de la structure et la variabilité (avec les saisons, les récoltes, . . . etc.) de la matière végétale ainsi que la large variété des composés à extraire (différents poids moléculaires, polarité, lien avec la structure, . . . etc.) [10]. qui sont citées comme suit :

Infusion, décoction, macération ou digestion, microonde, extraction solide-liquide et ultrason.

I. 1. Extraction solide-liquide

Utilisée dans plusieurs domaines à savoir préparation de produits alimentaires, pharmaceutiques, drogues, teintures ou parfums. Son principe se ressemble à celui de l'extraction liquide - liquide, sauf que pour le procédé d'extraction liquide-solide, le transfert des espèces métalliques se fait de la phase liquide (dans la laquelle se trouve l'échantillon) vers la phase solide (adsorbant, échangeurs d'ions et/ou chélateurs) [11,12].

En effet, l'impact positif ou négatif de plusieurs facteurs opératoires, tel que le temps, la température, le solvant, le ratio liquide solide, l'agitation, la taille des particules et leur interaction avec la matrice végétale peuvent influencer sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques [13].

I.2. Extraction assistée par Ultrason (UAE)

C'est une technique fréquemment utilisée pour l'extraction des composés bioactifs à partir des matières végétales par l'augmentation du rendement ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction, assistée par des ondes ultrasonores d'une fréquence allant de 16 KHz à 1 GHz, qui peuvent se propager dans les solides, les liquides et les gaz. Cette technique s'applique à toute extraction par un liquide tel que l'extraction liquide-liquide ainsi que l'extraction solide-liquide. Plusieurs extractions peuvent être effectuées simultanément [14].

L'extraction assistée par ultrasons peut être utilisée au laboratoire ou à un niveau industriel pour récupérer des composés intéressants comme des huiles essentielles, des arômes, des huiles végétales, des graisses, des antioxydants ou des colorants [15].

La répartition de ses fréquences est montrée sur la figure suivante :

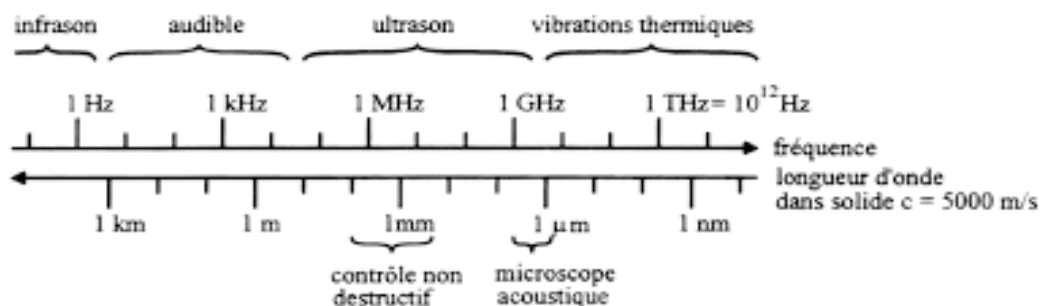


Figure 1: Echelle des ondes élastiques [15].

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques, leur propagation génère des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) dans un milieu liquide.

Deux conceptions générales des extracteurs assistés par ultrason sont distinguées:

- Bains ultrasoniques,
- Extracteurs fermés équipés d'un capteur ultrasonique.

a. Facteurs de l'ultrason

Plusieurs facteurs gouvernent l'action des ultrasons comme la fréquence, la pression, la température et le temps de sonication, ainsi que les caractéristiques de la plante comme l'humidité, les dimensions des particules et les solvants utilisés pour avoir un bon rendement [16].

En effet, les ultrasons favorisent la :

- Diffusion des substances dissoutes de l'intérieure de la matrice vers le milieu d'extraction ;
- Pénétration du milieu d'extraction dans la matrice en facilitant la libération de son contenu [11].

La figure suivante représente un schéma explicatif de la cavitation ultrasonique.

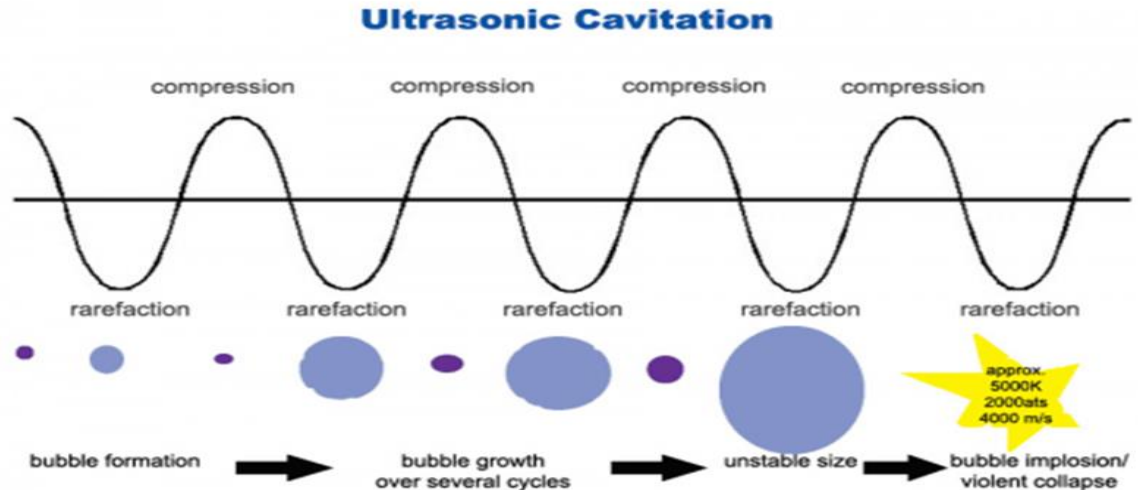


Figure 2 : Schéma de cavitation ultrasonique [16].

b. Avantage de l'ultrason

Quelques avantages de cette technique sont cités ci-dessous :

- Amélioration du rendement de l'extraction à temps réduit,
- Amélioration du procédé de l'extraction aqueuse lorsque les solvants ne peuvent pas être utilisés comme le concentré de jus,
- Fournir l'occasion d'utiliser des solvants alternatifs par l'amélioration de leur performance d'extraction,
- Extraction des substances thermosensibles (acides gras polyinsaturés, caroténoïdes, polyphénols...) à une température plus faible,
- La technique permet également l'utilisation d'une large gamme de solvant [15].

1.3. Composés phénoliques

Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, les plus abondants sont les acides phénoliques, les flavonoïdes qui contiennent 30% et 60% respectivement des polyphénols diététiques.

Les composés phénoliques sont caractérisés par la présence d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés avec d'autres fonctions (éther, ester, hétéroside). [17]

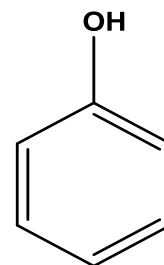


Figure 3 : Groupement phénol

En effet, ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieures (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) ; et certains phénols ont des fonctions biologiques importantes, ils sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme :

- Croissance cellulaire,
- Rhizogénèse,
- Germination des graines,
- Maturation des fruits.
- Défense biochimique contre les microbes et champignons chez les végétaux notamment chez certaines espèces).

En revanche, ils peuvent être toxiques, voire hautement toxiques pour l'homme et d'autres espèces lorsqu'ils sont anormalement disséminés dans l'environnement. Les phénols sont considérés comme des polluants de l'air, du sol ou de l'eau. [14]

On distingue quatre principales familles de composés phénoliques: les acides-phénols, les flavones, les anthocyanes et les tanins [18].

I.3.1. Utilisations des phénols

Le phénol est largement utilisé par la chimie organique et industrielle, il rentre dans la production des composés plus complexes (ex. : alkylphénols, caprolactame, acide salicylique, chlorophénols, nitrophénols, acide picrique, acide adipique), qui rentrent dans la production des plastifiants, résines, adhésifs, durcisseurs, dissolvants, isolants, explosifs...etc [19].

1.4. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés naturels appartenant à la famille des polyphénols, ils représentent les pigments universels de végétaux, qui sont responsables de la coloration des fleurs, des fruits et parfois des feuilles [20].

Par ailleurs, les flavonoïdes se répartissent en plusieurs classes de molécules (plus de 6400 structures ont été identifiées).

- **Structure des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des dérivés benzo-γ-pyrane. Leur structure de base est celle d'un diphenyl propane à 15 atomes de carbone (C₆-C₃-C₆), constitué de deux noyaux aromatiques (A et B), reliés par un hétérocycle oxygéné (C) ce qui définit son appartenance à un groupe déterminé.

Plusieurs groupes de flavonoïdes sont présents dans les écorces d'agrumes :

- Flavanones,
- Flavones,
- Flavonols.

En revanche, la différence du degré d'hydroxylation et de glycosylation fait la divergence de ces groupes [21].

La figure ci-dessous donne la structure des flavonoïdes :

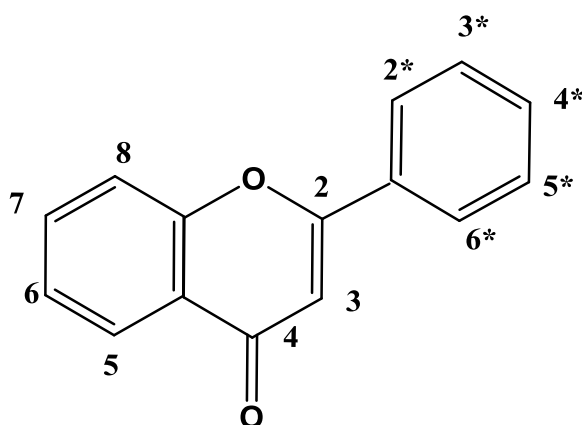


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes [21]

2. Méthode de surface de réponse (MSR)

La MSR est une approche d'optimisation développée au début des années 50 par Box et Wilson ; De nombreux chercheurs ont contribué à enrichir cette méthode [22].

Actuellement, la MSR est très répandue dans divers domaines scientifiques, citons en particulier : la biologie, la chimie, les sciences humaines et l'agronomie.

Son principe se repose essentiellement sur la détermination des variations de la réponse vis-à-vis des facteurs d'influence significative. Elle permet de déterminer une relation d'approximation entre les variables d'entrée et les variables de sortie en faisant une modélisation de la surface de réponse expérimentale [23, 24].

Cette méthode est ainsi utilisée pour déterminer la relation entre les paramètres indépendants du processus d'usinage avec la réponse souhaitée, afin d'explorer leurs effets sur les réponses considérées.

L'objectif d'une telle méthodologie consiste à :

- ✓ Déterminer les conditions de fonctionnement optimales pour un système ou un processus,
- ✓ Modéliser et analyser un processus pour lequel la réponse est influencée par plusieurs variables,
- ✓ Etablir un rapport (équation de la surface de réponse) entre la réponse et les variables indépendantes qui est dans la plupart des cas inconnu [25].

2.1 Méthodologie des plans d'expériences

Un plan d'expériences est une suite d'essais organisée au préalable de manière sert à déterminer en un minimum d'essais avec une précision maximale, l'influence de multiples paramètres sur une ou plusieurs réponses [26].

La méthode des plans d'expériences (MPE) vient pour déterminer une relation entre deux types de grandeurs :

- **La réponse** : Une réponse expérimentale ou variable dépendante, est une manifestation mesurable qui sera observée en variant les facteurs étudiés.
- **Les facteurs** : S'agissent de grandeurs physiques modifiables par l'expérimentateur afin d'influencer sur les variations de la réponse [27].

La figure suivante nous montre la relation entre la réponse et les facteurs :

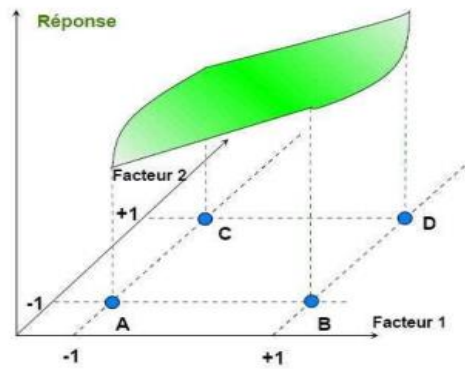


Figure 5 : Surface de réponse formée par l'ensemble des réponses correspondant à tous les points du domaine d'étude [29].

2.2 Domaine d'étude

Un domaine d'étude est défini comme l'ensemble de tous les points de la surface de réponse délimitée par les niveaux bas et haut de chaque facteur ; c'est donc un espace m-dimensionnel, dans lequel chaque point représente un "traitement" [28].

Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur comme illustré dans la figure 6 :

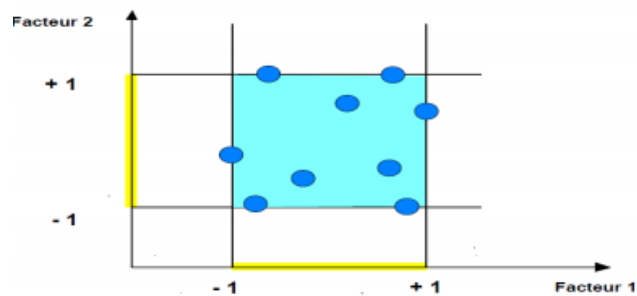


Figure 6 : Représentation schématique d'un domaine d'étude [29].

La méthode des surfaces de réponses se réalise en trois étapes :

- Construction du plan expérimental ;
- Modélisation de la réponse ;
- Représentations graphiques [28].

2.3 Modélisation et optimisation

La MSR regroupe des stratégies expérimentales de méthodes mathématiques et statistiques connue sous d'autres noms, par exemple « modèle de régression polynomiale », qui est présentée par la construction du modèle en premier lieu, puis par ses méthodes de validation [29].

Dans cette méthodologie, les modélisations de la fonction réponse peuvent également servir de base à la recherche de conditions optimales (optimisation indirecte). Cette modélisation s'appuie sur l'analyse de la variation des résultats d'essais obtenus suite à un plan d'expérience [26].

L'optimisation d'une réponse ou la recherche d'un compromis entre plusieurs réponses consiste à définir un réglage des facteurs permettant de satisfaire au mieux les exigences énoncées en termes de réponse [26].

2.4. Plans pour surface de réponse

Plusieurs types de plans pour surface de réponse existent parmi lesquels on peut citer les plans composites les plans de Box-Behnken et les plans de Doehlert [30].

2.4.1 Plans de Box-Behnken (PBB)

Box et Behnken (1960) ont introduit un type différent de plans d'expériences pour les modèles du deuxième ordre qui permettent l'estimation de certaines interactions.

Un plan de Box et Behnken est une fraction d'un plan factoriel complet 3^m qui permet d'estimer un modèle du second ordre [28].

2.4.2 Plan de Box-Behnken à trois facteurs

Les plans de Box-Behnken pour 3 facteurs impliquent trois blocs, dans chacun, un plan factoriel 2^2 qui est représenté par chaque paire de traitement pendant que le troisième facteur reste fixé à 0 [28].

Sa représentation graphique est donnée dans la figure 7 :

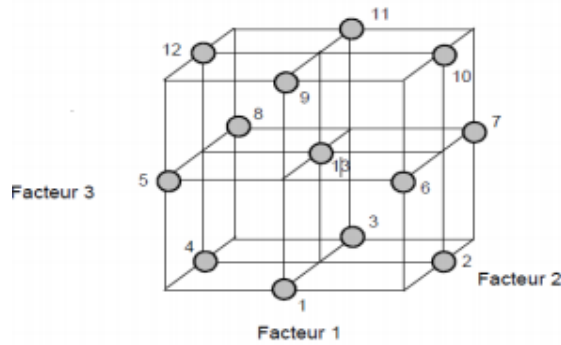


Figure 7 : Représentation graphique des points expérimentaux du plan de Box et Behnken à trois facteurs [27].

Ce plan comporte douze (12) essais aux quels est ajouté un (ou plusieurs) point central. Le numéro de chaque essai sur les différents points indique les coordonnées de chaque point suivant le tableau (1). Le nombre d’expériences (N) nécessaires pour la réalisation d’un plan de Box-Behnken est donné par :

$$N = 2k(k-1) + n_0 \dots\dots\dots (1)$$

Où :

k : nombre de facteurs

n₀ : nombre de points centraux ajoutés

Le tableau suivant montre un plan a 3 facteurs :

Tableau 1 : Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs [27].

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	0	-1	1
10	1	0	1
11	0	1	1
12	-1	0	1
13	0	0	0

2. 5.Notion de modélisation mathématique

Une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs a été choisie, par la prise d'un développement limité de la série de Taylor-Mac Laurine. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{j>i} \sum_{i=1}^{n-1} a_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^n a_{ii} X_i^2 \dots \dots (2)$$

Où :

y : la réponse ou la grandeur d'intérêt mesurée au cours de l'expérimentation et elle est obtenue avec une précision donnée ;

X_i : Représente le niveau attribué au facteur i par l'expérimentateur pour réaliser un essai.

Cette valeur est parfaitement connue. On suppose même que ce niveau est déterminé -sans erreur (hypothèse classique de la régression)

a_0, a_i, a_{ij}, a_{ii} : Sont les coefficients du modèle mathématique adopté a priori. Ils sont inconnus et doivent être calculés à partir des résultats des expériences [29].

2.6. Modèle de l'expérimentateur

Deux compléments doivent être apportés au modèle précédemment décrit :

- Le premier complément est le "manque d'ajustement" qui est l'écart entre ces deux modèles.

Le manque d'ajustement traduit le fait que le modèle a priori est fort probablement différent du modèle réel qui régit le phénomène étudié.

- Le deuxième complément s'intéresse à la nature aléatoire de la réponse. En effet, les résultats de la même réponse répétée plusieurs fois en un point expérimental sont dispersés. Ces dispersions ainsi constatées sont appelées erreurs expérimentales [29].

Ces deux écarts, manque d'ajustement et erreur expérimentale, sont souvent réunis. Deux compléments doivent être apportés au modèle précédemment décrit alors :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^n a_i X_i + \sum_{j>i} \sum_{i=1}^{n-1} a_{ij} X_i X_j + L + \sum_{i=1}^n a_{ii} X_i^2 + e \dots\dots\dots (3)$$

e : Erreur expérimentale.

L : Manque d'ajustement.

2.7. Matrice d'expérience [31]

L'ensemble des expériences à réaliser sont représentées dans une matrice d'expérience sous forme d'un tableau constitué de n lignes correspondant aux n expériences à réaliser et de k colonnes, correspondant aux k variables étudiées.

L'élément X^{ij} de la matrice ainsi formé correspond à la valeur des niveaux que prend la $j^{\text{ème}}$ variable à la $i^{\text{ème}}$ expérience Matrice d'expérience.

2.8 Analyse statistique

La qualité descriptive du modèle est définie par l'analyse statistique au moyen d'un tableau d'analyse de la variance (ANOVA) [30].

2.9. Analyse de la variance (ANOVA)

Elle s'agit d'un outil essentiel dans la détermination de la signification d'un effet ou d'un modèle mathématique. Son principe est basé sur le calcul de l'écart total entre les différentes mesures y_i du plan d'expériences et la moyenne de ces mesures [31].

3. Plante *Ammi visnaga* (*khella*)

3.1. Historique

L'*Ammi Visnaga* est originaire du delta du Nil utilisée déjà comme remède dans l'ancienne Egypte [32].

- Le mot *Ammi* désigne la plante. C'est un nom grec ammos, qui signifie «sable», en rapport avec le terrain où pousse la plante [33].
- *Visnaga*, le nom de la variété, dériverait de «bis acutum» qui veut dire à double pointe.

Cuminum alexandrinum, *C. aethiopicum* et *C. regium* (cumin alexandrin, éthiopien ou royal) : ce sont les vieux noms latins. En arabe est dite *Khella* [34].

La figure suivante illustre la photo de la plante :



Figure 8 : Photo prise dans la nature (*Ammi visnaga*) [32].

3.2 Description de plante

Sa description se repose sur sa classification, sa région et sa composition chimique :

3.2.1 Classification botanique ou taxonomique

Sa classification varie selon le type de son organe et selon sa graine

a/ Organes reproducteurs

- Type d'inflorescence : ombelle d'ombellules
- Répartition des sexes : hermaphrodite
- Type de pollinisation : entomogame
- Période de floraison : juillet à septembre
- Plante annuelle de 20 à 80 cm de hauteur

b/ Graine

- Type de fruit : diakène ovale de 2-2,5 mm
- Mode de dissémination : barochore

3.2.2. Habitat et répartition

Habitat type : friches annuelles, nitrophiles, thermophiles, estivales, mésohydriques

Aire de répartition: Afrique septentrionale (dans la vallée du Nil en Égypte, Maroc, Algérie et Tunisie). Il s'est naturalisé dans certains états des États-Unis (Californie, Texas, Floride etc.) et d'Amérique du Sud ou du Mexique [35].

Tableau récapitulatif des caractéristiques du *visnaga*

Tableau 2 : Classification botanique de l'*Ammi visnaga* [34].

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Apiales
Famille	Apiaceae
Genre	Ammi

3.3 Composition chimique

L'*A.visnaga* se compose essentiellement de :

Linalol :25 à 37%

Methyl 2butyrate d'isoamyle 9 à 25%

Isobutyrate d'amyle : 9 à 15%

Valerate d'amyle : 5à 10%

Sa composition peut se varier selon ses familles chimiques donnée comme suit :

Tableau 3 : les compositions chimiques des familles de l'*A. visnaga* [34].

Familles	Compositions chimiques
Furanochromones	2-4% (khellin 0.3-1.2 ; visnagin 0.05-0.3) Le khellol et ses glucosides ,Le khellenin ,Le khellinol ,L'ammiol et ses glucosides ,Le visammiol Le khellinone ,visnaginone.
Pyranocoumarines	(visnagans) :0.2-0.5% composé de visnadin, samidin et dhydrosamidin.
Furanocoumarines	traces de xanthotoxine et ammoidin
Flavonoïdes	0.02-0.03% composé de quercetine isorhamnetin et ses trisulfates
Volatiles	camphor, carvone, terpineol, terpinen-4-ol, linalol, cis et trans les oxyde de linalol
Protéines	14%

La teneur de ces composés dans les fruits secs varie largement selon les facteurs génétiques et les conditions environnementales [36].

3.4 Action pharmacologique

A. visnaga est connue pour ses vertus et effets, ceci est dû aux principes actifs rentrent dans sa composition qui sont la khelline et la visnadine :

- **khelline** est la chromone présentant des propriétés spasmolytiques sur la musculature des bronches.
- **visnadine** a des propriétés antispasmodique et vasodilatatrice des coronaires.

3.5. Utilisation d'*A. visnaga*

Elle a été utilisée pour le traitement de diverse pathologie depuis longtemps par les anciens égyptiens dont on cite :

- ✓ Les calculs rénaux ;
- ✓ L'asthme ;
- ✓ Bronchite,
- ✓ Lithontripique.
- ✓ Diurétique,

- ✓ Coqueluche (une infection respiratoire bactérienne peu ou pas fébrile de l'arbre respiratoire inférieur)
- ✓ Les problèmes circulatoires, Vasodilatation des vaisseaux sanguins, et la congestion de la glande prostate [35].

II. Matériels et Méthodes

Cette partie est consacrée essentiellement à la préparation de la plante *ammi visnaga* d'une part et son extraction de l'autre part.

II.1. Matériel végétal

Nous avons utilisé les feuilles de *visnaga* dans la réalisation de notre projet, sa préparation se repose sur ces principales étapes :

- 1. Récolte :** Les feuilles ont été récoltées de la région de Constantine (Algérie).
- 2. Conservation :** Elles sont conservées à l'air ambiant.
- 3. Broyage :** les feuilles de l'*ammi visnaga* utilisées ont été broyées à l'aide d'un broyeur.

La figure suivante montre notre plante broyée :



Figure 9 : Echantillon de l'*A. visnaga* [34].

II.2. Préparation des extraits

Avant d'effectuer l'extraction de notre plante, il est nécessaire de réaliser une étude préliminaire afin de fixer les conditions optimales.

II.2.1. Etude préliminaire

Cette partie a pour objectif de déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques contenus dans la plante *Ammi Visnaga* par l'Ultrason.

Les facteurs étudiés dans l'optimisation d'extraction des composés phénoliques totaux (CPT), sont (Temps, volume, et masse), avec la fixation de deux paramètres et en variant un seul.

a. Temps d'extraction

Pour étudier le temps, nous avons fixé la masse et le volume suivant ce protocole :

- Peser 1g de la matière végétale,
- Ajouter 100 ml du méthanol pur,
- Placer le mélange dans l'ultrason pour un temps d'extraction allant de 5min jusqu' à 40min.
- L'extrait a été filtré et le méthanol a été ensuite éliminer à l'aide du rotavapeur à 40 c°.

b. Volume du solvant

- Le temps optimum a été fixé à 30min,
- De même la masse est fixée à 1g,
- Plusieurs séries de volume du méthanol allant de 10jusqu'à 100 ml ont été effectué,
- Les extraits obtenus ont été filtrés avec la récupération du méthanol à l'aide du rota-vapeur (40 C°).

c. Masse de l'extraction

- Après avoir fixé le temps à 30 min et le volume du méthanol à 60mL, les masses seront donc variées dans une gamme allant de 0.5 jusqu'à 3g.
- Enfin, la filtration de tous les extraits avec l'élimination de notre solvant (méthanol) à l'aide du rota-vapeur (40 C°).

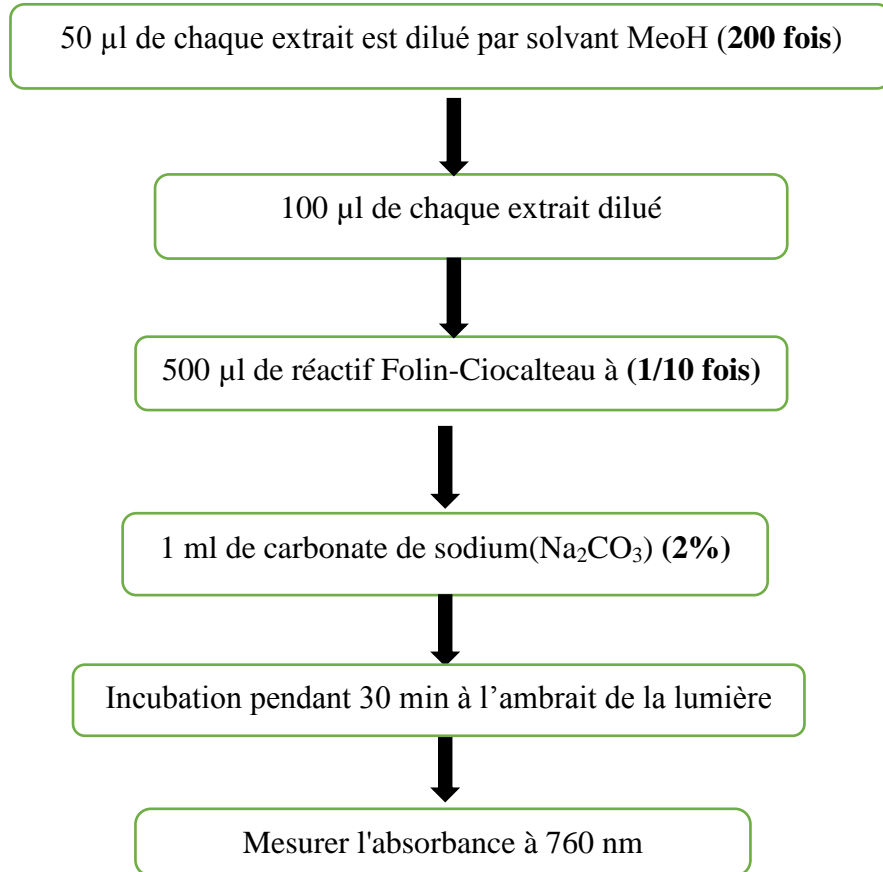
II.3. Dosage de la teneur des polyphénols totaux

La quantification des composés phénoliques totaux, est réalisée selon [37]. Avec le réactif Folin-Ciocalteu. En milieu basique (Na_2CO_3), l'ensemble des composés phénoliques sont oxydés par le réactif de Folin-Ciocalteu, ce dernier est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PM}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) qui est réduit, en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}).

La coloration bleue produite, présente un maximum d'absorption aux environs de 760 nm dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon.

II.3.1 Mode opératoire

Le protocole expérimental a été résumé dans l'organigramme qui suit :



- Un tube blanc a été effectué par le remplacement de l'extrait par le méthanol en suivant le même protocole.
- Enfin tracer la courbe d'étalonnage de l'acide gallique

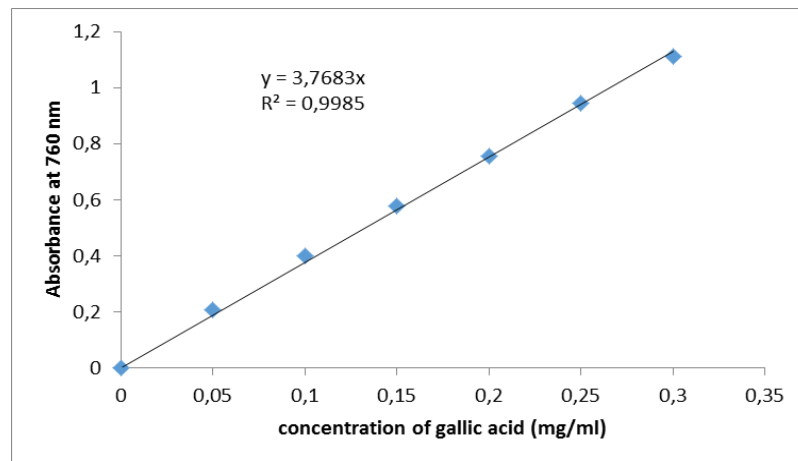


Figure10 : Courbe standard d'acide Gallique

II.4. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

Le dosage des flavonoïdes totaux par la méthode colorimétrique est réalisé selon la méthode adaptée par, [38]. En utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$.

Le principe de cette méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par le trichlorure d'aluminium qui forme un complexe jaune avec les flavonoïdes absorbée dans le visible à 510nm.

II.4.1. Mode opératoire

- Effectuer des dilutions pour chaque extrait (20 fois).
- Prendre un volume de 1 ml de chaque extrait dans un tube à essai
- Ajouter dans chaque extrait 1ml de trichlorure d'aluminium à 2%,
- Les tubes sont agités et incubés durant 15 minutes à la température ambiante.
- Lire par la suite les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible dont longueur d'onde est de 430nm.

Pour la réalisation du blanc :

- Mettre 1ml du méthanol dans un tube,
- Ajouter 1 ml d' $AlCl_3$ 2%,
- Incubation pendant 15min.

Nous effectuons la même opération pour la quercétine à différentes concentrations en introduisant 1ml de ces dernières dans une série de tubes et ajout de 1 ml d' $AlCl_3$ à 2%.

Les concentrations des flavonoïdes contenus dans les extraits sont calculées par l'équation de la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant la quercétine comme standard (figure 11).

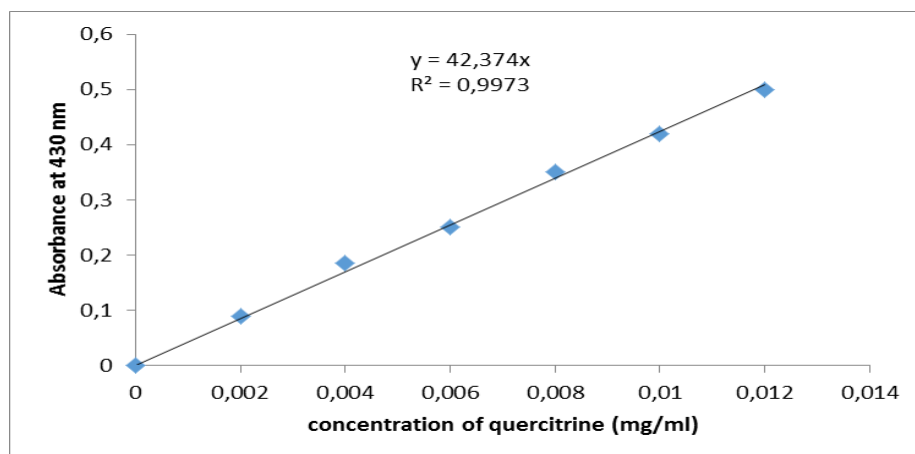


Figure 11 : Courbe standard de Quercétine

II .5. Test DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl)

II.5.1. Principe

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable soluble dans le méthanol de couleur violette intense, qui se réduit en présence de composés anti-radicalaires, en effet, il change de couleur en virant au jaune pale (figure 12).



Figure 12 : Photo décrit le changement de la couleur du DPPH [39].

L'absorbance mesurée à 517 nm sert à calculer le pourcentage de réduction du radical DPPH[•], qui est proportionnel au pouvoir anti radicalaire de l'échantillon [39].

II.5.2. Mode opératoire

- Préparation au préalable du DPPH à 250 μ M dans du méthanol ;
- Dilutions de nos extraits avec un nombre de dilution de l'ordre (40 000) fois ont été réalisées ;
- Ajouter 1ml de la solution du DPPH à 1ml de chaque d'extrait ;
- Un blanc a été préparé uniquement avec 1ml du méthanol ;

- Les tubes sont agités et conservés à l'obscurité durant 30 minutes à la température ambiante ;
- Lire les absorbances à partir du spectrophotomètre UV-visible dont la longueur d'onde est de 517nm.

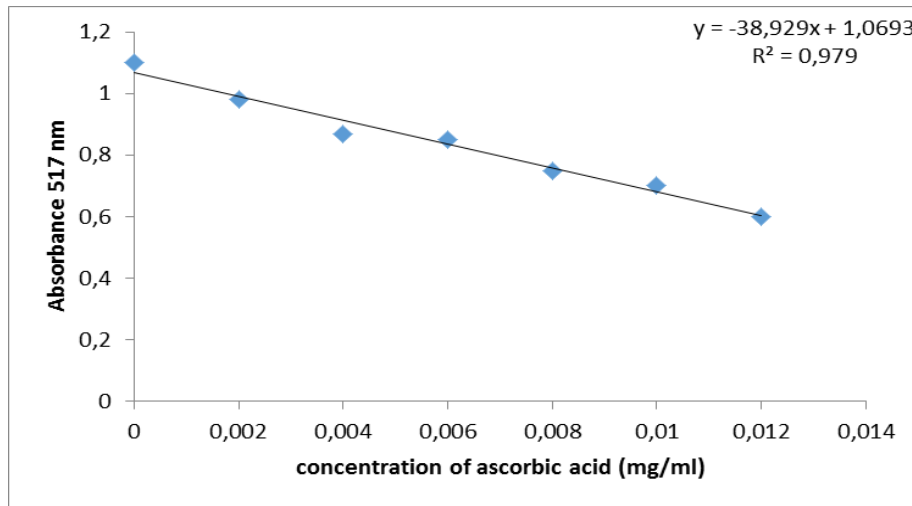


Figure 13 : Courbe standard de l'acide ascorbique

La capacité antioxydante a été exprimée en mg d'équivalents d'acide ascorbique (vitamine C) par g matière sèche (CEAAC). L'expérience a été répétée 3 fois pour calculer la moyenne. Le calcul de CEAAC a été réalisé en utilisant l'équation suivante :

$$CEAAC = \frac{(Abs_E - Abs_C)}{\alpha} \times D \times \frac{V}{1000} \times \frac{1}{Q_E} \dots \dots \dots (4)$$

Abs_C: Absorbance du contrôle (sans l'ajout de l'extrait) ;

Abs_E: Absorbance en présence de l'extrait (DPPH restant après la réaction avec l'extrait) ;

α: 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 (10ml) ;

Q_E: La quantité de l'échantillon utilisé en g (1g).

II.6. Analyse statistique

Tous les dosages ont été effectués en triple et les résultats sont exprimés en (moyenne). Ces différents tests ont été complétés par une étude statistique de la variance par (ANOVA). Un logiciel Matlab (Version 10. SAS, USA)) a été utilisé pour construire le plan d'expérience de (BBD) pour l'analyse de tous les résultats.

III. Résultats et discussions

III.1. Extraction des composés phénoliques par ultrason

L'extraction utilisée dans le présent travail est de type solide-liquide dont le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide-liquide, et faire dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et donc libérer le soluté. La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par diffusion.

III.1.1 Etudes préliminaires

L'extraction est l'une des étapes cruciales pour la recherche et l'étude des métabolites secondaires des plantes. En général, l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques est influencée par de multiples paramètres. Il fallait donc, étudier les paramètres d'extraction afin de déterminer les meilleures conditions qui permettent d'avoir les meilleurs rendements.

Les études préliminaires permettent la détermination des niveaux inférieurs et supérieurs des variables du plan expérimental utilisé afin de sélectionner un intervalle approprié pour l'extraction des CPT pour chaque variable indépendante.

III.1.1.1 L'effet de différents temps d'extraction

Le temps d'extraction est un paramètre très important car il a une influence sur le contact entre le solvant et matière solide. L'effet du temps d'extraction sur la teneur des composés phénoliques est représenté sur la figure 14. Le temps d'extraction a été varié de 20 à 35 min. Tandis que les autres conditions d'extraction ont été fixées comme suivantes : la masse 1g et le volume 100ml.

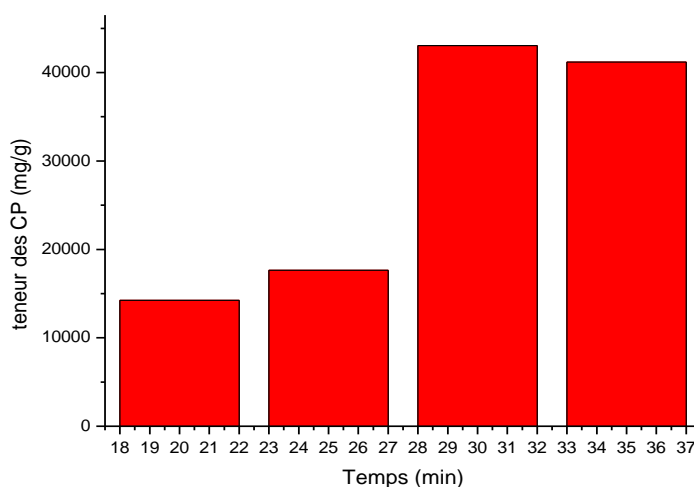


Figure 14: Effet de différents temps d'extraction sur les CPT

La teneur des composés phénoliques des extraits de *A.Visnaga* atteint une valeur maximale de 47000 (mg EAG / g MS) à un temps d'extraction de 30 min. De 30 min à 35 min, les teneurs des CPT n'augmentent plus, ce qui veut dire que le temps d'extraction prolongé n'est pas utile pour extraire plus de composés phénoliques. D'après la deuxième loi de diffusion de Fick, il y a un équilibre final entre les concentrations de soluté dans la matrice solide et le solvant après une durée particulière [40]. Par conséquent, le point central du temps d'extraction choisi pour MSR est de 30 min.

III.1.1.2 L'Effet de volume de solvant

L'extraction des composés phénoliques à partir de matrices végétales peut être effectuée en utilisant des solvants organiques [41]. L'efficacité de l'extraction est directement liée à la compatibilité entre les composés phénoliques et le volume de solvant utilisé, c'est pour ça on a procédé à différentes extractions avec différents volumes de solvant. La figure 15 montre les résultats de ces essais.

Les résultats obtenus dans la figure montrent que la variation du volume de solvant a un effet sur le taux d'extraction des polyphénols totaux cité dans l'étude [42].

Les teneurs augmentent avec l'augmentation de volume de solvant ce qui concorde avec les données de la littérature [41, 42]. Qui ont trouvé pour 50 mL de solvant d'extraction permettent d'extraire le maximum de TPC.

Dans notre étude, le volume qui a révélé la plus faible concentration est de 70 ml alors que la meilleure est attribuée à un volume de 60 ml. Le volume de 60 ml a été sélectionné pour les essais préliminaires, tandis que la gamme 50-70 ml a été choisie pour les essais de MSR.

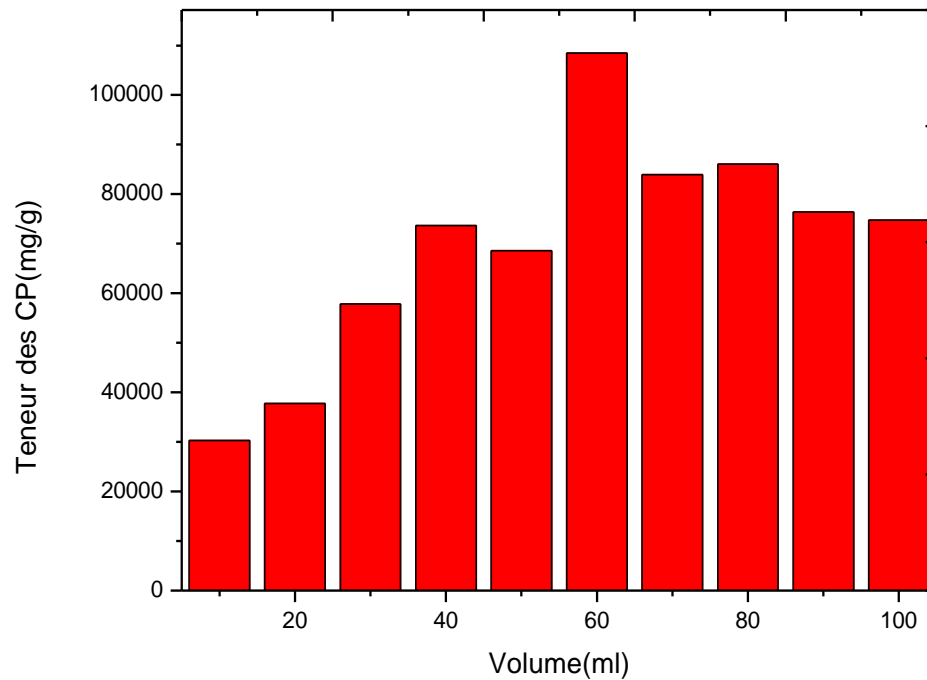


Figure 15 : Effet de différents volumes sur l'extraction des CPT

III.1.1.3 L'Effet de masse

Afin d'extraire le maximum de polyphénols, différentes masses de la matière sèche ont été utilisées à savoir 0,5, 1, 1,5, 2, 2,5, 3g. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 16. La masse de 1,5 g de la matière végétale a donné un meilleur rendement en CPT avec un taux de 47130 mg EAG/g de MS, suivie par 0.5 g avec une teneur de 22503 mg EAG/g MS, alors que 2.5g a donné le taux le plus bas de 38744 mg EAG/gde MS. De 1,5 à 2.5 g, les teneurs des CPT n'augmentent plus, ce qui veut dire que l'augmentation de la matière végétale n'est pas utile pour extraire plus de composés phénoliques. Une augmentation du masse d'extraction de 2g est accompagnée d'une diminution en CPT (42777 mg EAG /g MS).

La masse de 1,5g a été sélectionné pour les essais préliminaires, tandis que la gamme 1-2g a été choisie pour les essais de MSR.

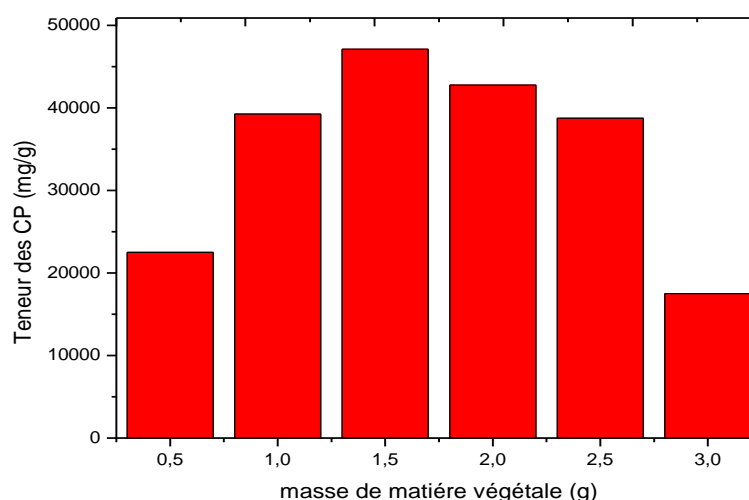


Figure 16 : Effet de différentes masses sur CPT.

III.2. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénolique totaux

Basées sur les observations des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendante (temps d'extraction, le volume et la masse de la matière végétale) influençant les réponses étudiées (polyphénols totaux, flavonoïdes et le test d'inhibition du DPPH°) ont été choisies. Les trois facteurs (X_1 , X_2 et X_3) à trois niveaux (-1, 0 et +1) qui ont été appliqués pour optimiser l'extraction des composés sont consignés dans le tableau 04:

Tableau 04: Domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation des composés phénoliques

Variables		Niveaux		
		-1	0	1
Temps (min)	X_1	25	30	35
Volume de solvant (ml)	X_2	50	60	70
Masse (g)	X_3	1	1,5	2

III.2.1. Plan d'expérience Box-Behnken

La méthode des surfaces de réponse a permis de déterminer une relation d'approximation entre les variables d'entrée (temps, volume, masse) et les réponses de sortie. Cette relation est formulée par un polynôme de second degré. Ce dernier permettra d'optimiser les paramètres de la réaction afin d'atteindre des réponses souhaitables. Les données expérimentales obtenues à partir des 15 essais ont été analysées aléatoirement à l'aide d'un plan d'expérience Box Behenken Design (BBD). Les réponses mesurées sont comparées à celles prédites pour l'estimation de l'écart et l'erreur expérimentale afin de vérifier la validité du modèle choisi. Les

résultats ont montré que la teneur en CPT varie entre 96,34 et 215,34mg EAG/ g de matière sèche (tableau 05), ceux-ci ne font que confirmer que les facteurs (temps, volume et masse) ont une influence sur l'extraction de CPT.

III.2.2. Validation du modèle

Le modèle mathématique, dans les plans d'expériences, unit la réponse qui est dans cette étude la teneur en composés phénoliques aux facteurs qui ont un effet sur elle. Dans l'objectif d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiées.

Les résultats enregistrés dans le tableau 06 indiquent que le modèle représente de manière adéquate la relation entre les paramètres choisis et la réponse en composés phénoliques. Cette analyse montre que le modèle est significatif ($P < 0,05$) avec un coefficient de régression R^2 de 0.92 (figure 17).

De plus, la valeur du coefficient de détermination de R^2 ajusté est de l'ordre de 0.89 et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0,05$).

Tableau 05 : Matrice expérimentale de Box-Behnken pour trois facteurs (X_1 , X_2 et X_3) et leurs réponses CPT, FVT et DPPH, exprimé en (mg/g matière sèche).

Expérimental	Facteurs			Réponse		
	X_1 (min)	X_2 (ml)	X_3 (g)	CPT	FVT	DPPH
1	0	0	0	127,36	1,61	3623,07
2	-1	0	1	106,50	1,68	3353,84
3	1	-1	0	138,94	1,60	4612,82
4	0	-1	-1	154,90	0,95	2917,94
5	-1	-1	0	86,80	1,85	4897,43
6	1	0	1	148,39	1,08	5212,82
7	0	1	-1	165,86	1,91	3151,28
8	0	0	0	96,34	1,40	5256,41
9	1	1	0	133,77	2,32	1602,56
10	1	0	-1	126,38	1,40	1738,46
11	-1	1	0	214,17	2,47	4917,94
12	0	-1	1	229,76	0,97	5441,02
13	-1	0	-1	152,67	0,68	2535,89
14	0	1	1	215,41	2,00	2523,07
15	0	0	0	161,49	2,62	1302,56

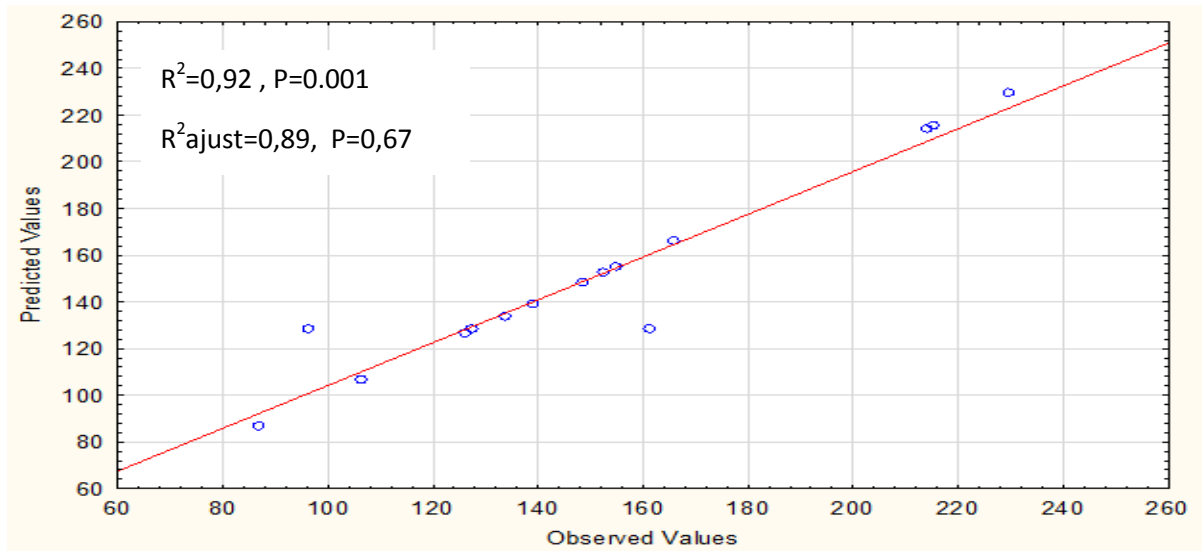


Figure 17: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

Tableau 06 : Analyse de la variance des modèles polynomiaux de second ordre.

Régression	R ²	R ² (ajusté)	Rapport F du modèle	Prob.>F	Défaut d'ajustement (Rapport F)	Défaut d'ajust. (Prob.>F)
Y _{CPT}	0,92	0,89	114,89	0,001*	0,45	0,67
Y _{Flavonoïde}	0,78	0,69	979,40	0,044*	88,70	0,451
Y _{DPPH}	0,72	0,66	109,77	0,034*	278,67	0,234

La valeur-p a été utilisée pour vérifier la signification de chaque coefficient, elle est inférieure.

III.2.3. Modèle mathématique

Le modèle mathématique du plan BBD des 15 essais reliant la teneur en composés phénoliques et les paramètres expérimentaux est présenté par la relation suivante :

$$CPT = 128,40 + 3,89 X_1 - 0,84 X_2 + 31,10 X_3 - 33,13 X_1 X_2 + 17,04 X_1 X_3 - 6,32 X_2 X_3 - 21,48 X_1^2 + 36,51 X_2^2 + 26,57 X_3^2 \dots \dots \dots (5)$$

III.2.4. Effet des facteurs (coefficients)

L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à analyser l'impact des variables (X_1 , X_2 , et X_3) afin de déterminer le degré d'influence des facteurs (temps, volume, masse) sur l'extraction des substances bioactives.

Tableau 07 : Coefficients de régression et leurs significations statistiques

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
CPT				
Constant				
b_0	128,40	18,81	6,82	0,02
Linéaire				
b_1	3,89	1,62	0,23	0,83
b_2	-0,84	0,069	-0,051	0,96
b_3	31,10	6,69	0,196	0,15
Interaction				
b_{12}	-33,13	10,65	-2,03	0,179
b_{13}	17,04	6,45	1,04	0,40
b_{23}	-6,32	1,78	1,46	0,56
Quadratique				
b_{11}	-21,48	7,89	-1,45	0,33
b_{22}	36,51	12,89	2,15	0,16
b_{33}	26,57	13,44	1,56	0,25

III.2.4.1. Effet linéaire

D'après les résultats de la présente étude, il existe deux facteurs qui possèdent une influence positive sur la teneur des composés phénoliques des extraits d'*A. Visnaga* qui sont : le temps (X_1) qui a un $P=0,83$, et la masse (X_3) avec un $P=0,15$.

III.2.4.2. Effet quadratique

L'effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur de volume de solvant (X_2^2) avec $P=0,16$, l'effet quadratique de masse (X_3^2) avec $P=0,25$ et l'effet quadratique de temps (X_1^2) avec $P=0,33$.

III.2.5. Analyse des surfaces de réponse

III.2.5.1. Temps –volume (X_1^2 *)

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, le volume et le taux d'extraction des CPT sont représentés dans la figure 18. Les résultats obtenus montrent que le couple temps d'extraction et la masse (X_1^2 *) présente un effet non significatif avec $P=0,179$. Une augmentation de la teneur en composés phénoliques a été observée avec l'augmentation de temps d'extraction de 25 à 30 min et le volume de 50-60 ml. La stabilité de la teneur en CPT a été observée dans tout le domaine de la variation du facteur volume, lorsqu'il atteint une certaine valeur (volume de 60-70 ml). Les résultats suggèrent que dans une certaine gamme

l'augmentation du temps d'extraction pourrait accélérer la dissolution des composés d'intérêt alors qu'un temps prolongé pourrait induire la dégradation de certains composés.

III.2.5.2. Temps-masse($X_1 * X_3$)

La figure 18.B montre la surface de réponse qui présente l'effet de temps et la quantité de masse $X_1 * X_3$ sur l'extraction des composés phénoliques. Les résultats obtenus indiquent que l'interaction temps–masse est non significative avec la probabilité supérieure à 0,4. Si on augmente le temps d'extraction et la masse d'extraction et on fixe le volume à 60 ml simultanément, la teneur en composés phénoliques augmente de 125 à 250 mg EAG/g donc le temps d'extraction et la masse augmentent proportionnellement avec le taux d'extraction des CPT.

III.2.5.3. Volume-masse ($X_2 * X_3$)

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le volume de solvant, la quantité de masse et le taux d'extraction des composés phénoliques sont représentés dans la figure 18. C. Les résultats obtenus montrent que l'interaction entre la quantité de masse et le volume de solvant ($X_2 * X_3$) présente un effet non significatif avec $P=0,56$. Une augmentation de la teneur en composés phénoliques a été observée avec l'augmentation de la masse de 1-2g et le volume de solvant de 50-70 ml. Ce résultat est compatible avec le principe du transfert de la matière, où la force de transmission durant ce transfert est le gradient de la concentration de soluté entre le solide et le liquide. Cette force accroit lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé bien que le rendement d'extraction puisse être toujours fort.

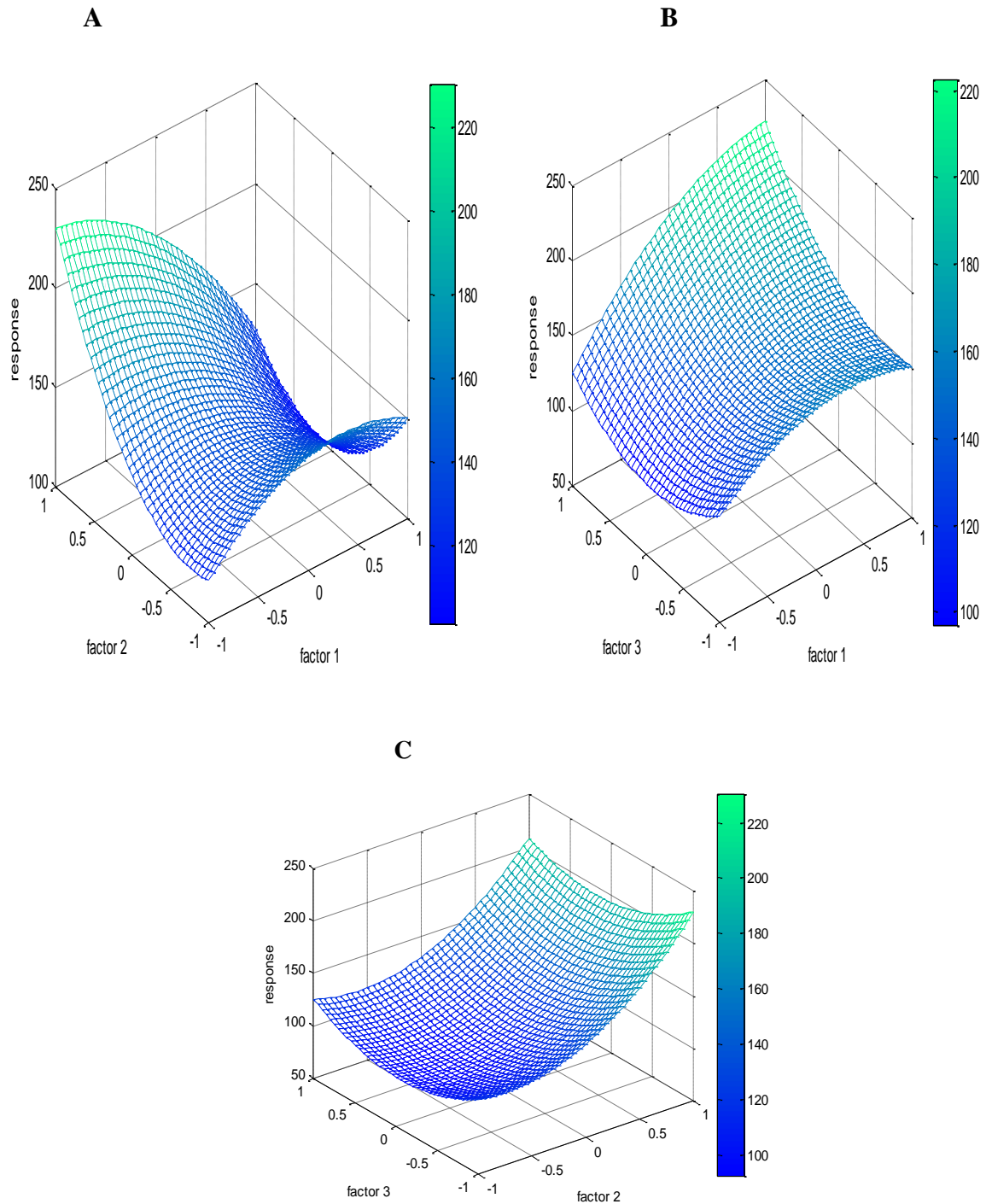


Figure 18 : Surface de réponse pour les effets volume/temps (A), la masse/temps(B) et volume/masse (C) sur le rendement des composés phénolique.

III.2.5.4 Validation des conditions optimales d'extraction selon le profil de prévision

Dans cette partie, l'objectif était de vérifier la capacité prédictive du modèle et de déterminer la meilleure combinaison des conditions d'extraction de l'*A.Visnaga*. Le logiciel Matlab a permis d'estimer les valeurs prédites par la valeur de désirabilité variant de 0 à 1 avec des valeurs parfaites lorsque $d = 1$, et des valeurs acceptables lorsque $d > 0,7$. Dans notre cas, le

but était de maximiser la valeur de CPT. Les résultats de l'optimisation sont présentés dans la figure 19.

Les conditions optimales pour les CPT, sont les suivantes, un temps d'extraction de 27,5 min, un volume de méthanol de 70 ml et une quantité de masse 2g. La réponse prévue pour la combinaison optimale est CPT= 229,77 (mg EAG/g MS),

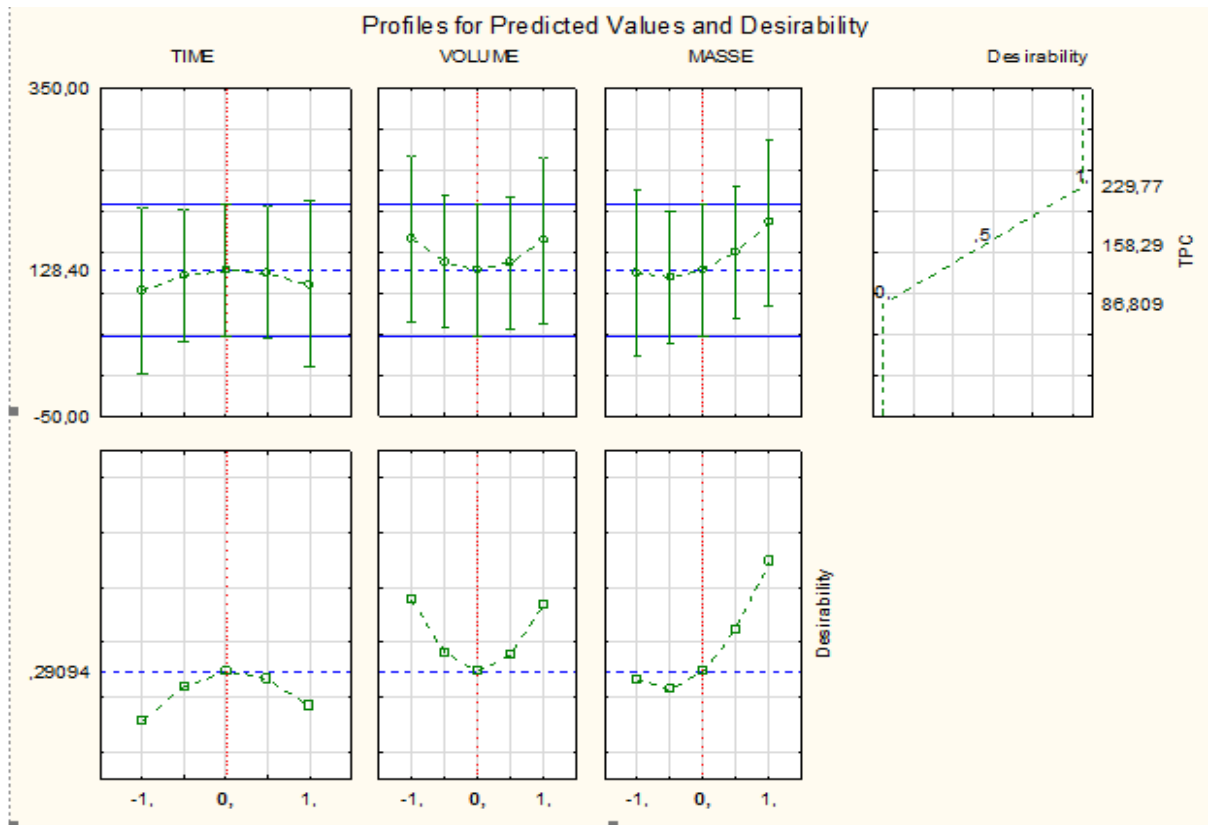


Figure 19 : Combinaison optimale pour une meilleure extraction des CPT.

III.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés flavonoidiques

III.3.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la quercétine. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,9971$ (figure 11). Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent quercétine par gramme de la matière sèche (mgEQ /gMS).

Les résultats de la présente étude, montrent que les teneurs en composés flavonoidiques varient de 0,95 à 2,62 mg EQ/g de MS (tableau 05). Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (temps, volume et masse) sur le taux des flavonoïdes.

III.3.2. Coefficient de corrélation

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient de corrélation R^2 . Les résultats de l'analyse de la variance de la régression obtenus sont représentés dans (figure 20) et (tableau 08).

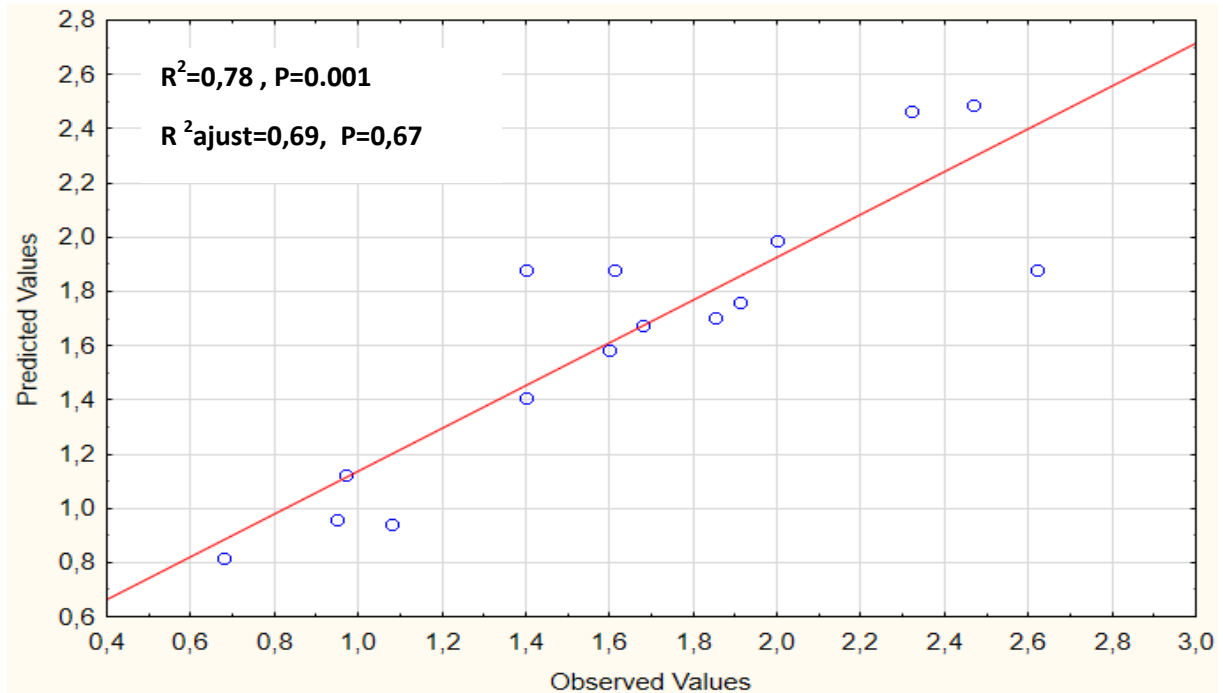


Figure 20: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

L'analyse statistique a montré que le coefficient de corrélation R^2 et celui d'ajustement sont de 0,78 et 0,69 respectivement. Il y a un manque d'ajustement du modèle qui est non-significative à $p < 0,05$, indiquant que le modèle pourrait être utilisé pour prédire les résultats obtenus en terme des flavonoidiques par cette technique d'extraction assistée par ultrason (tableau 08).

III.3.3. Effet des facteurs (coefficients)

Les résultats du calcul des coefficients de régression estimés du modèle polynomial sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 08: Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
FLV				
constant				
b_0	1,88	0,253	7,34	0,0037
linéaire				
b_1	-0,034	0,0156	-0,223	0,831
b_2	0,41	0,0149	-0,139	0,044
b_3	0,098	0,0134	0,631	0,555
interaction				
b_{12}	0,027	0,0124	0,113	0,914
b_{13}	-0,331	0,0119	-1,492	0,195
b_{23}	0,018	0,003	0,798	0,188
Quadratique				
b_{11}	-0,0352	0,203	-2,756	0,039
b_{22}	0,214	0,023	0,935	0,329
b_{33}	-0,633	0,067	-2,769	0,500

III.3.4. Analyse du modèle mathématique

Connaissant les valeurs du coefficient b_0 , les coefficients linéaires, les coefficients des interactions et quadratiques de chaque facteur, ces valeurs sont rapportées dans la fonction de Y_{FVT} , le modèle mathématique postulé est un modèle polynomial de second degré présenté par la relation suivante :

$$FLV=1,88 - 0,034 X_1 + 0,41 X_2 + 0,098 X_3 + 0,027 X_1 X_2 - 0,331 X_1 X_3 + 0,018 X_2 X_3 - 0,0352 X_1^2 + 0,214 X_2^2 - 0,633 X_3^2 \dots\dots\dots(6)$$

III.3.4.1. Effet linéaire

D’après les résultats de la présente étude, il existe un seul facteur qui possède une influence significative négative sur l’extraction des composés flavonoïdiques des extraits de notre plante *A.Visnaga* qui est : le temps d’extraction (X_1) avec un $p=0,044$. Ce résultat montre que le temps d’extraction joue un rôle important dans l’extraction des composés flavonoïdiques, ce qui est déjà rapporté par plusieurs auteurs.

III.3.4.2. Effet quadratique

Les résultats obtenus, indiquent que seulement un facteur possédant un effet quadratique sur l’extraction des composés flavonoïdiques, à savoir : le temps d’extraction (X_1^2) avec une probabilité de $P= 0,039$, contrairement aux autres facteurs : volume (X_2^2) et la masse (X_3^2) influencent d’une manière in significative avec $P= 0,329$ et $0,5$, respectivement.

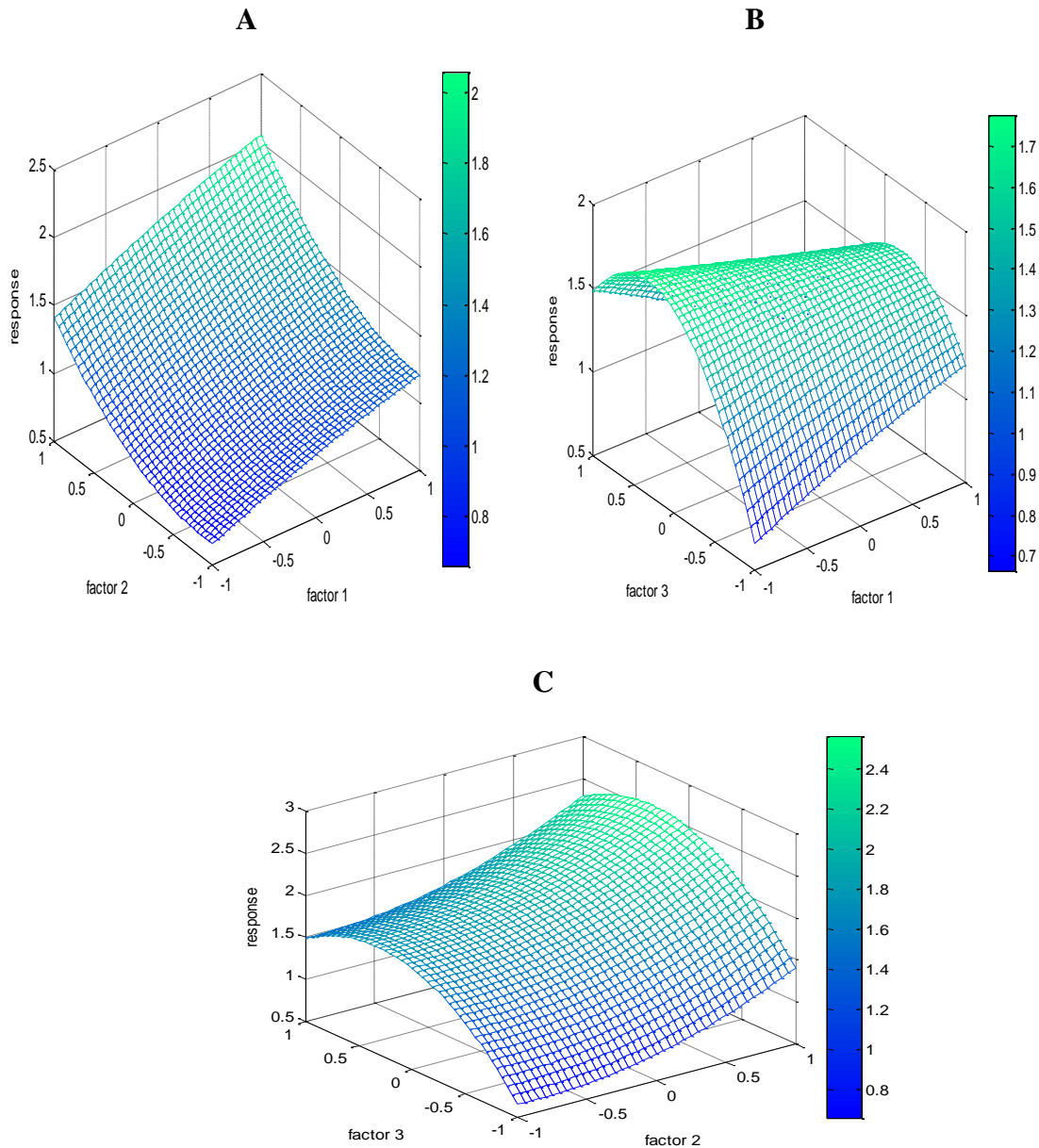


Figure 21: Surface de réponse pour les effets volume/temps (A), la masse/temps(B) et volume/masse (C) sur le rendement des composés flavonoidiques des extraits du *Visnaga*.

III.3.4.3. Temps –volume ($X_1 * X_2$)

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, le volume de solvant et le taux d'extraction composés flavonoidiques sont représentés dans la figure (21. A). Les résultats obtenus montrent que le temps d'extraction, et la masse ($X_1 * X_3$) présente un effet non-significatif avec la probabilité supérieure à 0,900. Si on augmente le temps d'extraction et le volume de solvant et on fixe la masse à 1,5g simultanément, la teneur en composés flavonoidiques augmente de 0,8 à 1,8 mg EQ/g donc le temps d'extraction et le volume de solvant augmentent proportionnellement avec le taux d'extraction des FVT.

III.3.4.4. Temps –masse ($X_1 * X_3$)

Les résultats obtenus montrent que le couple temps d'extraction et la masse ($X_1 * X_2$) présente un effet significatif avec $P=0,188$. Une augmentation de la teneur en composés flavonoidiques a été observée avec l'augmentation du temps d'extraction de 25-32,5 min et la quantité de masse de 1-1,5g, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, à un temps de 33-35 min et la masse de 1,5-2 g une diminutions légère de la quantité de composé extrait est constatée. Cela est due probablement à la dégradation des composés flavonoidiques par les ondes électromagnétiques émet par l'ultrason. Ce qui est démontré dans l'étude préliminaire lors de l'étude de la cinétique d'extraction sous l'effet d'irradiation ultrasonique. Une longue exposition aux radiations ultrasonique entraine une dégradation de certains constituants thermolabiles.

III.3.4.5. Volume-masse($X_2 * X_3$)

La figure (21. C) montre la surface de réponse qui présente l'effet de volume et la masse ($X_2 * X_3$) sur l'extraction des composés flavonoidiques.

Les résultats obtenus montrent que le couple la masse et le volume ($X_2 * X_3$) présente un effet non significatif avec $p=0,188$. Une augmentation de la teneur en composés flavonoidiques a été observée avec l'augmentation le volume de 50-60 ml et la masse de matière sèche environ de 1-1,5 g, alors qu'avec une augmentation du volume liquide au-delà de 60 ml, les teneurs des FVT n'augmentent plus.

Ce qu'est compatible avec les résultats de composés phénoliques figure (18. A).

III.3.5. Paramètres optimaux

Cette étude montre qu'un modèle polynomiale d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparait que les conditions expérimentales optimales qui conduisent à une maximisation de l'extraction des FVT sont obtenues au sein du domaine expérimental. Les conditions d'extraction optimale identifiées par l'utilisation du logiciel Matlab sont représentées dans la figure ci-dessous.

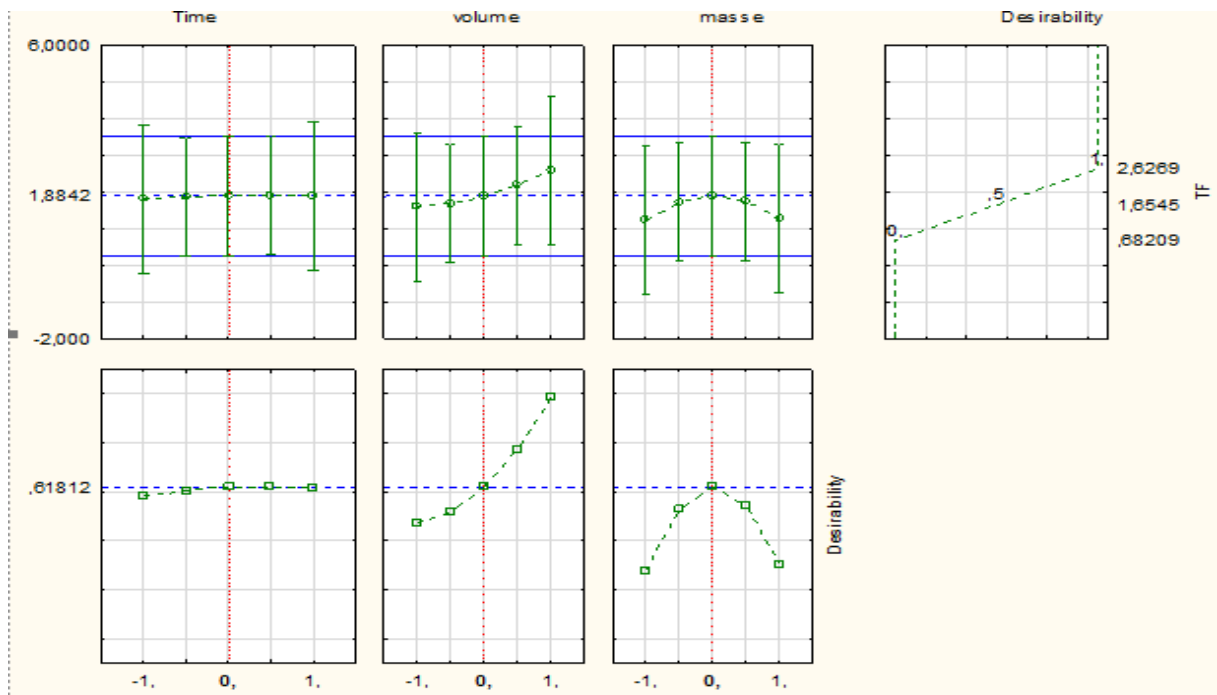


Figure 22 : Combinaison optimale pour une meilleure extraction des FVT

Les conditions optimales pour les FVT, montrées dans la figure 22 sont les suivantes, un temps d'extraction de 30 min, un volume de méthanol de 70 ml et une quantité de masse 1,5g. La réponse prévue pour la combinaison optimale est FVT= 2,62 (mg EQ/g MS).

III.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante

III.4.1. L'activité scavenger sur le radical DPPH

Le DPPH est un radical libre de couleur violette, il est réduit en un composé de couleur jaune en présence de composés antiradicalaires. L'intensité de la coloration, mesurée au spectrophotomètre à 515nm, est inversement proportionnelle à l'activité antiradicalaire des composés dont on souhaite déterminer l'activité. L'acide ascorbique a été utilisé comme étalon à différentes concentrations (figure 13) La capacité antioxydante a été exprimée en mg d'équivalents d'acide ascorbique (vitamine C) par g matière sèche (EAAC). Les résultats montrent que tous les extraits présentent des activités anti-radicalaire considérables variant de 1602 à 5442 mg EAAC/g de MS (tableau 05). Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (temps, volume et masse) sur l'activité anti-radicalaire.

III.4.2. Coefficient de corrélation

Dans la présente étude, la valeur de coefficient de corrélation R^2 est de l'ordre de 0,72, signifiant que uniquement 28% des variations ne sont pas expliquées par le model (figure 23 et tableau 09). De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté (R^2_{ajust}) est d'environ de 0,66, qui est assez moyenne pour confirmer la significativité du model, sachant que ce terme représente la valeur du coefficient de détermination (R^2) après élimination des termes(coefficients) inutiles du model.

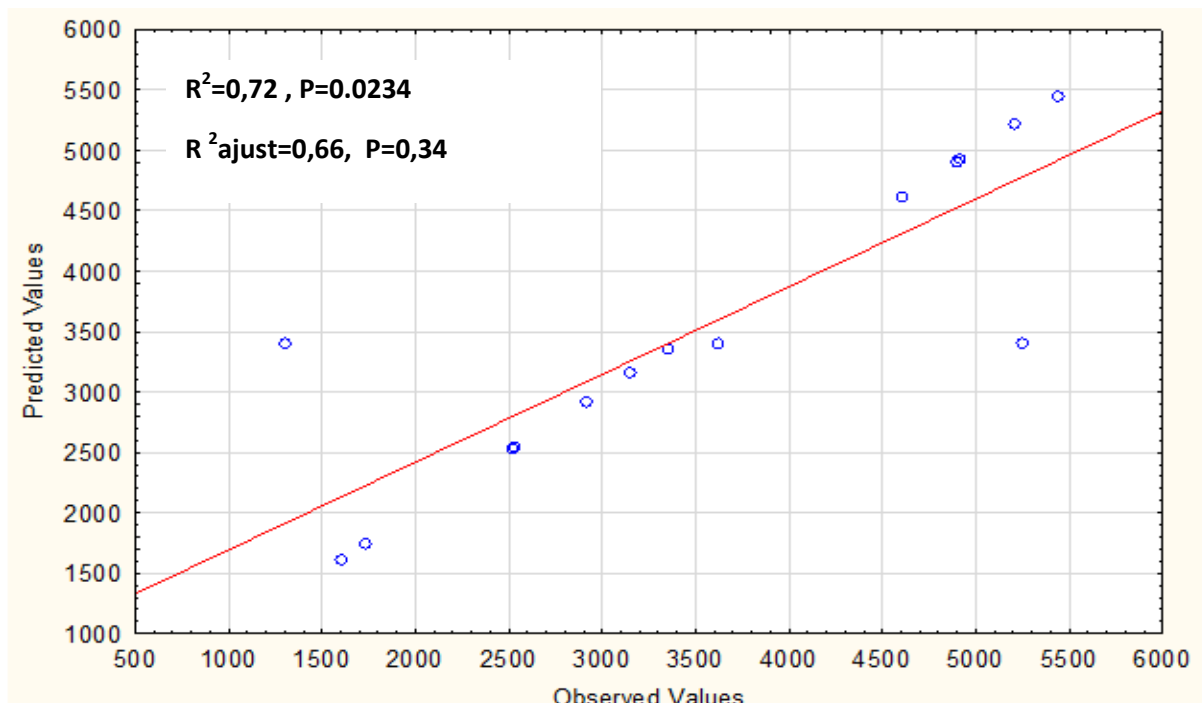


Figure 23: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

III.4.2.1.Effet des facteurs (coefficients)

Les résultats du calcul des coefficients de régression estimés du model polynomial sont représentés dans le tableau.

Tableau 09 : Coefficients de régression et leurs significations statistiques.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
DPPH				
constant				
b_0	3394,01	1147	2,95	0,097
linéaire				
b_1	265,38	99,34	0,267	0,814
b_2	-671,15	90,34	-0,675	0,58
b_3	473,72	89,23	0,476	0,680
interaction				
b_{12}	-757,69	88,90	-0,762	0,525
b_{13}	664,10	88,78	0,668	0,527
b_{23}	-787,82	88,36	-0,793	0,510
Quadratique				
b_{11}	157,79	10,33	0,152	0,892
b_{22}	455,87	39,99	0,440	0,702
b_{33}	341,55	89,90	0,476	0,680

III.4.3. Analyse du modèle mathématique

D’après les résultats de l’étude, les valeurs des coefficients significatifs et la fonction qui régit l’activité antiradicalaire à partir des extraits de *A visnaga* sont alors bien connues. Le modèle mathématique du BBD de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$DPPH=3394,01 +265,38X_1- 671,15 X_2 +473,72 X_3- 757,69 X_1 X_2 +664,10X_1 X_3- 787,82 X_2 X_3+157,79 X_1^2 +455,87 X_2^2 + 341,55X_3^2.....(6)$$

III.4.3.1. Effet linéaire

D’après les résultats de la présente étude, il existe deux facteurs qui possèdent une influence positives sur l’activité antioxydante des extraits de la plante *visnaga* qui sont : le temps (X_1) qui a un P=0, 814, et la masse (X_3) avec un P=0,688.

III.4.3.2. Effet quadratique

L’effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur de masse (X_3*X_3) avec P=0,680, il est suivi par l’effet quadratique de volume de solvant (X_2*X_2) avec P=0,702 et l’effet quadratique de temps (X_3*X_3) avec P=0,892.

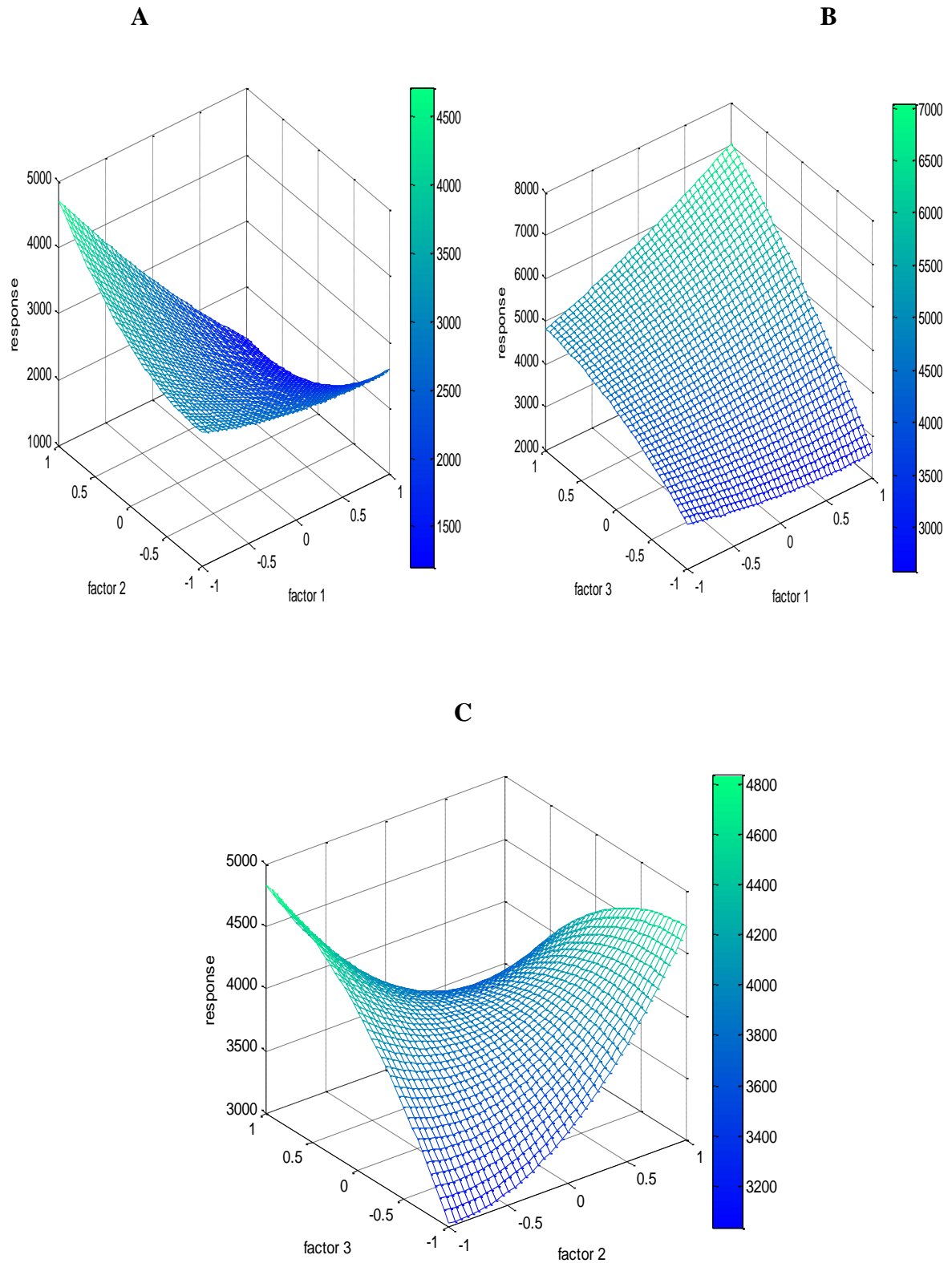


Figure 24: Surface de réponse pour les effets volume/temps (A), la masse/temps (B) et volume/masse (C) sur l'activité scavenger DPPH des extraits de *visnaga* .

III.4.3.3. Analyse des surfaces de réponse

III.4.3.3.1. Temps –volume($X_1 * X_2$)

La figure (24. A) montre la surface de réponse qui présente l'effet de temps d'extraction et le volume de solvant sur l'activité scavenger DPPH. Les résultats obtenus montrent que le temps d'extraction, et le volume de solvant ($X_1 * X_2$) présente un effet non-significatif avec $P=0,889$. Une diminution de l'activité antioxydante a été observée avec l'augmentation de temps d'extraction de 25-35 min et le volume de solvant de 50 à 70ml. Ce qu'est compatible avec les résultats de composés phénoliques et flavonoidiques (figure.18.A et figure.21. A).

III.4.3.3.2. Temps –masse ($X_1 * X_3$)

Les résultats obtenus montrent que le temps d'extraction, et la masse($X_1 * X_3$) présente un effet non-significatif avec la probabilité supérieure à 0,05. Si on augmente le temps d'extraction et la masse d'extraction et on fixe le volume à 60 ml simultanément, l'activité antiradicalaire augmente de 3700 à 5500 mg EAG/g donc le temps d'extraction et la masse augmentent proportionnellement avec l'activité antioxydante. Ce résultat est en accord avec les observations des composés phénoliques figure (18. B).

III.4.3.3.3. Volume-masse($X_2 * X_3$)

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre volume de solvant, la masse ($X_2 * X_3$) et l'activité antioxydante sont représentés dans la figure (24. C). Les résultats obtenus montrent que le couple masse et volume ($X_2 * X_3$) présente un effet non-significatif avec $P=0,680$. Une diminution de l'activité antioxydante a été observée avec l'augmentation de volume de 60 à 70 ml et la masse de 1,5 à 2g, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, une masse de de 1 à 1,5g et le volume de méthanol de 50 à 60 ml une augmentation remarquable de l'activité antioxydante est constatée. Ce qu'est compatible avec les résultats de composés flavonoidiques figure (21. C).

III.4.4. Conditions optimales

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 antioxydante sont obtenues au sein du domaine expérimental. Les conditions d'extraction optimale identifiées par l'utilisation du logiciel Matlab sont représentées dans la figure 25.

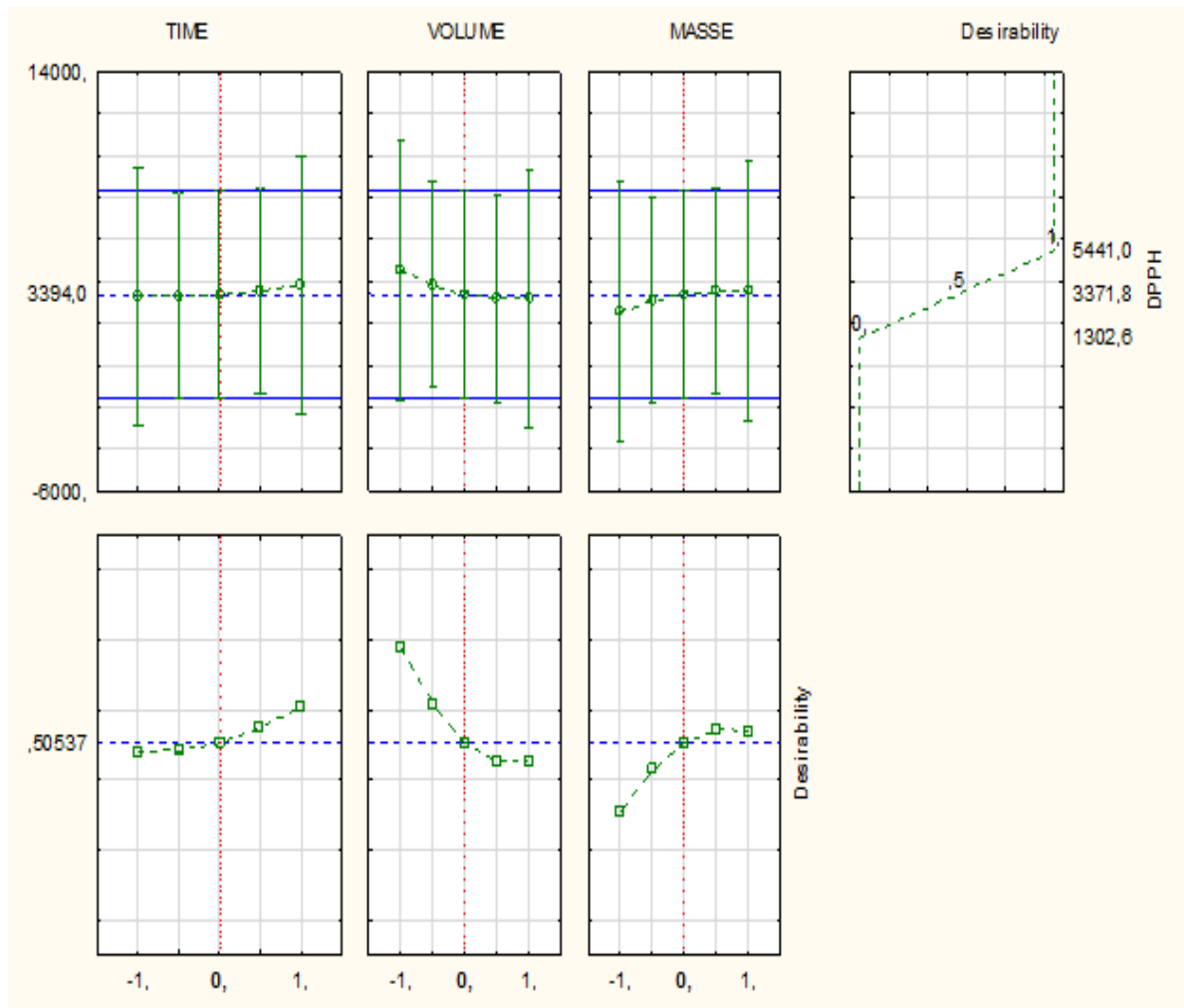


Figure 25: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

Les conditions optimales pour les EAAC, sont les suivantes, un temps d'extraction de 30 min, un volume de méthanol de 50 ml et une quantité de masse 2g. La réponse prévue pour la combinaison optimale est EAAC = 5441mg /g MS.

Conclusion générale

Les plantes médicinales représentent une source très riche en molécules bioactives, d'où l'intérêt de leur étude. Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à l'étude phytochimique et à l'évaluation de l'activité antioxydante de différents extraits d'*Ammi visnaga* récoltée dans la région de Constantine par la méthode d'extraction assistée par ultrason.

Dans cette étude, la méthodologie de surface de réponse (RSM) a été utilisée pour optimiser les conditions d'extraction assistée par ultrasons (EAU) afin d'obtenir le rendement et la teneur maximaux en composés phénoliques d'extraits d'*Ammi visnaga* (EAV). Trois variables indépendantes, notamment le temps d'extraction, le volume du solvant (méthanol), et la masse de la matière végétale ont été étudiées.

Dans cette étude, RSM a d'abord été utilisé pour estimer et optimiser trois variables (durée d'extraction, volume du solvant et la masse) afin d'obtenir un rendement maximal et une teneur totale en composés phénoliques avec moins d'essais expérimentaux. Le modèle Box-Behnken (BBD) a été appliqué pour évaluer les effets de ces trois variables.

L'analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les CPT, flavonoïdes et le test d'inhibition au radical DPPH°, dans le cas d'extraction assistée par ultrason, donne des coefficients de détermination (R^2) de 0,92, 0,78 et 0,72, respectivement. De plus, les valeurs des coefficients de détermination ajusté (R^2 ajustée) sont de l'ordre de 0,89, 0,69 et 0,66, cette analyse montre que le modèle est significatif ($P < 0,05$) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0,05$). Ceci nous permis de conclure que les valeurs expérimentales concordaient étroitement avec les valeurs prédites dans le cas des CPT, flavonoïdes et le test d'inhibition au radical DPPH°. L'analyse de variance a révélé une grande qualité de l'ajustement du modèle et le succès de la méthode RSM pour optimiser l'extraction d'*A. Visnaga*.

Les conditions optimales pour obtenir le meilleur rendement en phénols totaux étaient obtenues avec un temps d'extraction de 30 min, volume de méthanol est de 60mL, et une masse de 1,5g. Dans ces conditions, la teneur prévus en phénoliques totaux par le modèle est de 229,76 (mg EGA / extrait), dans des conditions optimales ajustées.

En termes de perspective et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- D'optimiser d'autres paramètres influençant l'extraction des polyphénols tels que le pH, la granulométrie des particules et la température, ..., etc.
- D'élargir l'application du model de Box- Behenken sur d'autres plantes, et de favoriser son utilisation au niveau industriel ;
- Une étude de l'activité antioxydante par d'autres méthodes (ORAC, TRAP, ABTS) ;
- Isolement des molécules responsables des activités antioxydantes observées ;
- Recherche d'autres activités biologiques ; antimicrobiennes; antidiabétiques...etc.

Références

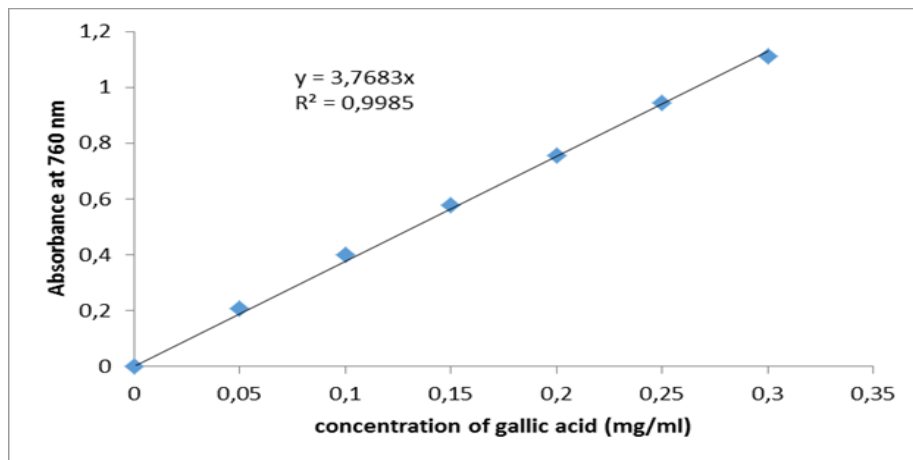
- [1] **Svoboda K., Svoboda T., (2000)**- Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed: microscopix publications: 7-12.
- [2] **Favier A. (2006)**. Stress oxydant et pathologies humaines. *Ann. Pharm. Fr.*; 64: 390-396.
- [3] **Bahorun T., (1997)**. Substances naturelles actives: La flore mauricienne, une source d'approvisionnement potentielle. *Food. Agric. Res. Council, Réduit, Mauritius*: 83-94.
- [4] **Djebaili S., (1984)**. Steppe algérienne. Phytosociologie et écologie. Ed. OPU, Ben-Aknoun, Alger: 177.
- [5] **Bouattoura N., (1988)**. Les ressources phylogénétiques. Importance- Préservation- Utilisation. *Annales, INA, El Harrach-Alger*, 12 (1), T 1: 43-63.
- [6] **Maizak K., et al., (1993)**. Pharmacopée traditionnelle: Sahara septentrional. Actes du 2e colloque européen d'ethnopharmacologie, Heidelberg:169-181.
- [7] **Hanifi, N., (1991)**. Importance des ressources phylogénétiques et leur utilisation en Algérie. Inconservation des ressources végétales. Publication de Actes éditions: 47-49.
- [8] **AZZI, R. (2013)**. Contribution à l'étude de plantes médicinales utilisées dans le traitement traditionnel du diabète sucré dans l'Ouest algérien: enquête ethnopharmacologique; Analyse pharmaco-toxicologique de Figuier (*Ficus carica*) et de coloquinte (*Citrulluscolocynthis*) chez le rat Wistar. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen (thèse de Doctorat).
- [9] **FADI, Z. (2011)**.Le romarin *Rosmarinus officinalis* Le bon procédé d'extraction Pour un effet thérapeutique optimal.Université Mohammed V Soussi –Rabat (Doctorat en Pharmacie) 40-42.
- [10] **RAHMANI, H. (2017)**. Contribution à l'étude phytochimique et valorisation de l'espèce *Agave americana* L dans l'Ouest Algérien. Université Djillali Liabes-Sidi Bel Abbès (Thèse de Doctorat) 22-24
- [11] **HAMSI, N. (2013)**.Contribution à l'étude de l'optimisation de l'extractionsolide-liquide des lipides par Soxhlet du caroubier (*Ceratonia siliqua*) de la région de Tlemcen. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen (mèmre de master) 11-12.

- [12] **RAJEHA, R. (2015)**. Optimisation des méthodes d'extraction des composés phénoliques des raisins libanais et de leurs coproduits. Université Saint-joseph de Beyrouth (thèse de Doctorat) 71-74
- [13] **MOUEDDEN, K. (2014)**. Extraction liquide-solide de l'ion cadmium par la résine Lewatit TP 208. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen (mémoire de master) 10-11.
- [14] **KHENFER, S.MEDJOUEL, M. (2016)**. Optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques d'une plante médicinale de la région sud du Sahara Algérien. Université Kasdimerbah- Ouargla (mémoire de master) 11-12.
- [15] **Benzeggouta, N. (2015)**. Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Université Mentouri-Constantine (thèse de Doctorat) 17-18.
- [16] **MICHEL, T. (2011)**. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaerhamnoides*). Université D'Orléans (thèse de Doctorat) 79-84.
- [17] **Mohammedi, Z. (2013)**. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud-Ouest de l'Algérie. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen (thèse de Doctorat) 25-26.
- [18] **DOUAR LATRECHE, S. (2012)**. Composition chimique et activité antioxydante d'extraits du fenouil annuel (*Ammi visnaga* lamk du thé mexicain (*Chenopodium ambrosioides* L.) et d'une espèce de thym (*Thymus pallescens* de Noé). Ecole nationale supérieure Agronomique (ENSA) – Elharrach-Alger. (mémoire de Magister) 24-27.
- [19] **Macheix J.J. et al ., (2006)**. Composés phénoliques dans la plante-Structure, biosynthèse, répartition et rôles. In Les polyphénols en agroalimentaire, 398 p. Sarni-Manchado P., Cheynier V., Ed. Paris: Lavoisier. 1-28.
- [20] **M'HIRI, N. (2015)**. 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. Université de Lorraine (thèse de Doctorat) 18-20.

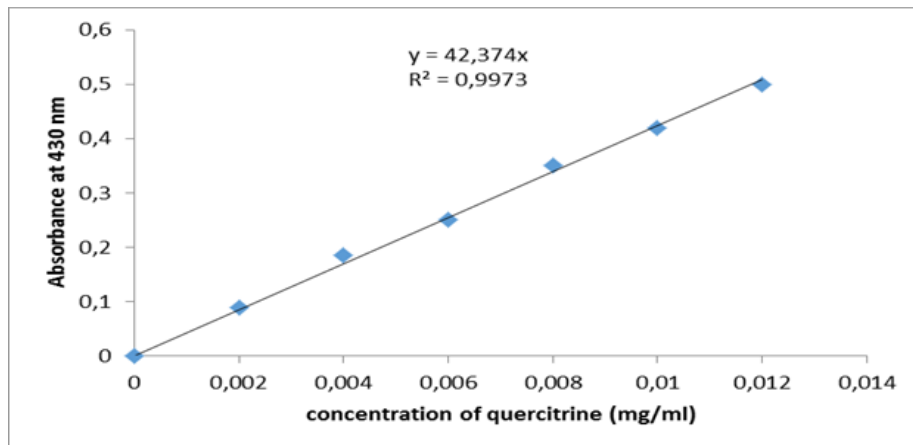
- [21] **Boudjouref, M. (2011)**. Etude de l'activité antioxydante et antimicrobienne d'extraits d'*Artemisiacampestris L.* Université Ferhat Abbes, Sétif (mémoire de Magister) 9-10.
- [22] **RGUIG, M. (2005)**. Méthodologie des surfaces de réponse pour l'analyse en fiabilité des plates-formes pétrolières offshore fissurées. Université de Nantes (thèse de Doctorat) 6-8.
- [23] **VIVIER, S. (2002)**. Stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis. Université des Sciences et Technologie de Lille -. Français. (Thèse de Doctorat) 63-66.
- [24] **Krishnaiah D et al., (2015)**. Optimisation of spray drying operating conditions of *Morindacitrifolia L.* fruit extract using response surface methodology, *Journal of King Saud University – Engineering Sciences*, 27 : 26–36.
- [25] **Khettabi F et al., (2016)**. Contribution to improving the surface quality by optimizing the cutting parameters using the response surface methodology in dry milling. *Rev.Sci. Technol., Synthèse* 32: 115 -123.
- [26] **Kouadri S, Arbaoui, M. (2017)**. Modélisation de l'usure par la méthode de surface de réponse en tournage à sec. Université Kasdimerbah- Ouargla. (Mémoire de Master) .18-20.
- [27] **HALHAL, Y HADROUG, S. (2017)**. Optimisation par le plan d'expérience Box-Behnken de la production d'une pectinase à partir des écorces d'agrumes. Université A. MIRA-Bejaia (mémoire de Master) .9-11.
- [28] **Kimouche , K.(2008)** .Etude de quelques plans d'expériences associées aux surfaces de réponse. Université Mentouri–Constantine (mémoire de Magister) 40-45.
- [29] **HAMMOYDI, A HADJSEYD, S. (2017)**. Optimisation des critères de la rugosité par MSR et l'algorithme génétique en tournage à sec de l'acier 42CD4. Université Kasdi merbah Ouargla. (mémoire de Master).13-19.
- [30] **Mourabet, M. (2014)**. Modélisation et optimisation de l'adsorption des ions fluorure sur des phosphates de calcium. Université bn-Tofail-Maroc. (Thèse de Doctorat).49-51.
- [31] **BOUDJENIBA-BOUZAOUIT, N. (2012)**. Etude par simulations numériques de la réactivité dans la réaction d'acylation enzymatique de substrats osidiques. Université badji mokhtar-Annaba. (mémoire de Magister).12-13.

- [32] **BENBAKHTI, O. (2017)**. Contribution à l'étude phytochimique et l'activité antioxydante des extraits d'*Ammi visnaga*. Université de Tlemcen. (mémoire de Master).9-11.
- [33] **BERCISSE, H. (2015)**. Contribution à l'étude phytochimique et à l'effet antioxydant des extraits d'*Ammi visnaga* L. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen. (mémoire de Master). 14-17.
- [34] **Ouedrhiri, W. (2010)**. Etude phytochimique de l'*Ammi visnaga* et l'*Ammimajus*. Université Abou Baker Belkaid-Tlemcen. (mémoire de Master) .6-8.
- [35] **Grazyna, Z. al.Determination. (1998)**. of furanochromones and pyranocoumarins in drugs and *Ammi visnaga* fruits by combined solid-phase extraction–high- performance liquid chromatography and thin-layer chromatography–high-performance liquid chromatography,*journal of chromatography*.
- [36] **Hammouda F. M., .al. A (2005)**. Guide to Medicinal Plants in NorthAfrica.
- [37] **Singleton V.L., Rossi J.A.,(1965)**- Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic Phospho tungsticacideagents. *A merican Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-158.
- [38] **Zhishen J., Mengcheng T., Jianming W., (1999)**- The determination of flavonoid contents in mulberry and theirs canenging effects on superoxideradicals, *Food chemistry*, 64(4): 555-559.
- [39] **Benzie, I et al, (1996)**. The ferricreducingability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *AnalyticalBiochemistry*, 239, 70-76.
- [40] **Majd, M. et al., (2014)**.Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from bovine pennyroyal (*Phlomischema parviflorum*) leaves using response surface methodology,» *Industrial Crops and Products* , vol. 57 :195–202.
- [41] **Simeonov, E. et al (1999)**. Solid – liquid extraction from plants experimental kinetics and modeling, *Chem.Eng.Journal*, 73.
- [42] **Zaddem, M.(2014)**. Application de la méthode des surfaces de réponse pour l'optimisation du blanchiment du son de blé par du peroxyde d'hydrogène et son incorporation dans une farine de pain. Mémoire de maîtrise. Québec (Canada), 110.

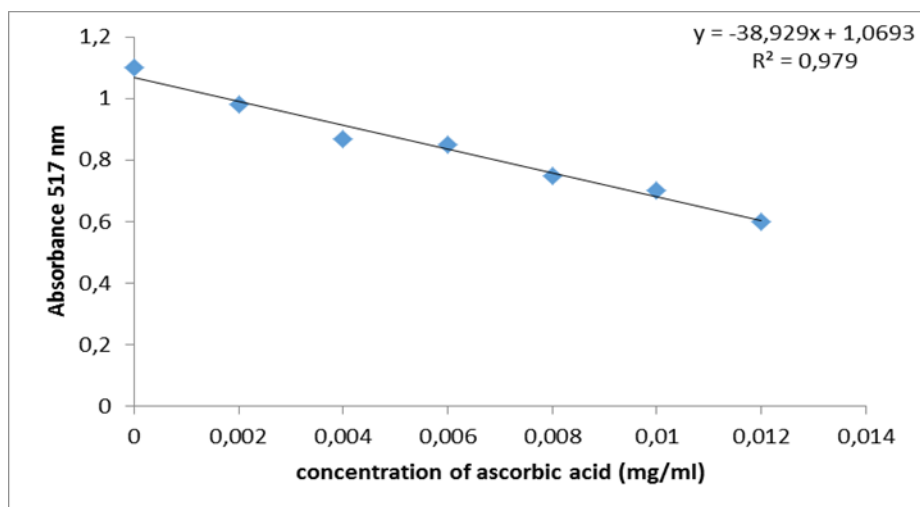
Courbe standard d'acide Gallique



Courbe standard de Quercétine



Courbe standard de l'acide ascorbique



الملخص

تم استخدام طريقة استخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية (استخلاص بمساعدة الموجات فوق الصوتية) لاستخراج الفينول من الخلة البلدية). في هذه الدراسة، تم استخدام RSM لأول مرة لتقدير وتحسين ثلاثة متغيرات مستقلة (وقت الاستخلاص، حجم الميثانول وكتلة المادة الجافة) من أجل الحصول على أقصى قدر من المردود والمحتوى للمركبات الفينولية الكلية مع أقل اختبارات تجريبية. ظروف الاستخلاص المثلى المتحصل عليها لمركبات الفينول الكلية كالتالي: مدة الاستخلاص 30 دقيقة، حجم الميثانول عند 60 مل و1,5 جم من الكتلة. وكشف التحليل الإحصائي أنه في ظل هذه الظروف كانت قيمة الفينول المتوقع في الخلة البلدية بواسطة نموذج BBD 229,77 (ملغم EGA / غرام من المادة الجافة).

الكلمات المفتاحية : *Ammi visnaga*, extraction, ultrason, RSM, CPT, DPPH, flavonoïdes .

Résumé

Une méthode d'extraction assistée par ultrasons (UAE) a été utilisée pour extraire les composés phénoliques d'*Ammi. visnaga*. Dans cette étude, la RSM a d'abord été utilisé pour estimer et optimiser trois variables indépendants (durée d'extraction, volume du méthanol et la masse de matière sèche) afin d'obtenir un rendement maximal et une teneur totale en composés phénoliques avec moins d'essais expérimentaux. Les conditions optimales d'extraction pour obtenir une teneur maximale en composés phénoliques totaux étaient les suivantes: temps d'extraction de 30 minutes, méthanol à 60 mL et 1,5g de la masse. L'analyse statistique a révélé que dans ces conditions la teneur prévue en phénoliques totaux en *A. visnaga* par le modèle BBD étaient 229,77 (mg EGA / extrait).

Mots clés : *Ammi visnaga*, extraction, ultrason, RSM, CPT, DPPH, flavonoïdes.

Abstract

An ultrasound-assisted extraction (UAE) method was used to extract phenolics from *Ammi. Visnaga*. In this study, RSM was first used to estimate and optimize three independent variables (extraction time, methanol volume and dry matter mass) in order to obtain a maximum yield and a total content of phenolic compounds with fewer experimental tests. The optimal extraction conditions to obtain a maximum content of total phenol compounds were the following: extraction time of 30 minutes, methanol at 60 mL and 1,5 g of the mass. Statistical analysis revealed that under these conditions the expected total phenol content in *A. visnaga* by the BBD model was 229,77 (mg EGA / extract).

Keywords: *Ammi visnaga*, extraction, ultrasound, RSM, CPT, DPPH, flavonoids.

