

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
بالأغواط

UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم

FACULTE DES SCIENCES

قسم علوم المادة

DEPARTEMENT Sciences de la Matière



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE

SCIENTIFIQUE

جامعة عمّار تليجي

Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la matière

Filière : Chimie

Option : chimie organique appliquée

Par : CHETOUANE Fella ZAITRI Zineb

THEME

**Contribution à l'optimisation d'extraction
assistée aux ultrasons des composés phénolique et activité
antioxydante d'une plante *rhanterium adpressum***

Soutenu publiquement le 01/07/2020 devant le jury composé de :

YOUCEFI Mohamed

Pr

Président

AMI Yasmine

M.A.A

Examinatrice

BEN AHMED Ziyad

M.C.A

Rapporteur

Année Universitaire : 2019- 2020



Remerciements

*Nous remercions **ALLAH** tout puissant de nous avoir accordé volonté et patience dans l'accomplissement de ce travail à terme.*

*Nos premiers remerciements s'adressent particulièrement à notre promoteur **Dr. BEN AHMED ZIYAD** pour nous avoir guidés et soutenus, pour son aide durant toute la période du travail, pour ses précieux conseils, ses orientations bienveillantes, son infatigable dévouement, sa disponibilité et son soutien moral et pour aussi surtout sa précieuse collaboration, ses critiques constructives et ses encouragements.*

*Nos remerciements vont aussi à **Pr. YOUSFI MOHAMED** d'avoir accepté de présider le jury de notre mémoire et pour la disponibilité, les conseils et notamment le respect durant les années d'université.*

*Nous remercions également **M^{me} AMI YASMINE** d'avoir accepté de juger ce travail et pour son aide et ces précieux conseils.*

Et enfin nous tenons à remercier de tout cœur les personnes ayant participé de loin ou de près à l'élaboration de ce travail.

Merci beaucoup



❖ *A l'aide de **dieu** tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j' i pu réaliser ce travail que je dédie :*

❖ *A la lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie **ma mère** qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien ui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

❖ *A mon cher père*

❖ *A mes sœurs surtout ibtissam*

❖ *A mes frères*

❖ *A ma grande famille.*

❖ *A mon encadreur ben ahmed ziyad pour ces conseils, sa presence, et sa patience.*

❖ *A mon binôme Zineb et toute sa famille Zaitri*

❖ *Toutes mes amies surtout maroua et toutes les personnes qui me connaissent.*

❖ *Spéciale dédicace à la promotion M2.*

Fella

Au Nom d'ALLAH le tout puissant, qui nous a éclairé les chemins du savoir et de la sagesse, je dédie ce modeste travail en signe de dévouement:

A mon père et ma mère, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité !

A mes frères et mes chères sœurs

A tous les membres de la famille zaitri !

A mon binôme fulla et toute sa famille !

A mon encadreur ben ahmed ziyad

A tous mes amis !

A tous mes enseignants !

zineb

Sommaire

Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1
Chapitre 1 :Généralités sur les plantes étudiées	
1. introduction	3
1.2.Description Botanique du genre	3
1.3.Distribution géographique	3
1.4.Rhanterium adpressum	4
1.4.1.Description botanique	4
1.4.2.Classification systématique de la plante	5
1.4.3.Habitat et Répartition géographique	5
Chapitre 2 :Composés phénoliques	
II.1.introduction	6
II.2.Classes des polyphénols	6
II.2.1.les formes les plus simples	7
II.2.2.Classification	8
II.2.3.les formes condensées	9
II.3.Méthodes d'extractions des composés phénoliques	10
II.3.1.l'extraction assistée par ultrason	11
II.3.2.les avantages de cette méthode	12
II.4.Activité antioxydantes	13
II.4.1.introduction	13
II.4.2.Rôle des radicaux libres	13
II.4.3.Définition des antioxydant	13
II.4.4.Modes d'action des antioxydant	14
Chapitre 3 :Généralités sur les plans d'expériences	
III.1.1.Définition	15
III.1.2.principe	15
III.1.3.les avantages	15
III.1.4.types	16
III.1.5.Domains d'utilisation	16
III.1.6.Terminologie	16

III.2.2.plan de box behnken à trois facteurs	18
III.3.Modèle mathématique postulé	20
Matériels et méthodes	
IV.1. Matériel et méthodes	21
IV.1.1.Matériel végétal	21
IV.1.1.1.Protocole utilisé pour l'extraction	21
IV.2 Optimisation des conditions d'extraction	21
IV.2.1.Etude préliminaire	21
IV.2.2.Analyse préliminaire	21
IV.2.2.1.la masse de l'extraction	21
IV.2.2.2 Le volume de solvant	22
IV.2.2.3 Le temps d'extraction	22
IV.3. Dosage des composés phénoliques totaux (cpt)	22
IV.3.1.principe	22
IV.3.2. Mode opératoire	22
IV.3.1.Expression des résultats	22
IV.4. Dosage des flavonoides totaux (FVT	22
IV.4.1.principe	22
IV.4.2.Mode opératoire	23
IV.4.2 Expression des résultat	23
IV.5. Test DPPH (2,2-diphényl-1-picryl-hydrazyl	23
IV.5.1.principe	23
II.5.2.Mode opératoire	23
IV.6.Conception expérimental	24
IV.6.1. Matrice d'expériences	24
V.6.2.Analyse de la variance	25
IV.6.3.Coefficient de détermination (R^2)	26
IV.7.Analyse statistique	26
Résultats et discussion	
V.1. Extraction des composés phénoliques par ultrason	27
V.1. 2 L'effet de volume de solvant	28
V.1.3 L'effet de différents temps d'extraction	28
V.2. optimisation des conditions d'extraction des composés phénolique totaux	29
V.2.1. Plan d'expérience Box-Behnken	30

V.2.2. Validation du modèle	31
V.2.3.Le coefficient de détermination (R^2)	31
V.2.3. Model global et manque d'ajustement	32
V.2.4. Effet des facteurs (coefficients)	33
V.2.3 Modèle mathématique	34
V.2.6. Effet linéaire	34
V.2.7. Effet quadratique	34
V.2.8. Analyse des surfaces de réponse	34
III.2.8.Analyse des surfaces de réponse	34
III.2.8.1.Masse-volume	34
V.2.8.1.Temps-masse	35
III.2.8.2.Temps-Volume	36
III.3.4.3. Condition optimales	37
V.3. Optimisation des conditions d'extraction des composés flavonoidiques	38
V.3.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides	38
V.3.2. Coefficient de corrélation	38
V.3.3. Effet des facteurs (coefficients)	39
V.3.4. Analyse du modèle mathématique	39
V.3.4. 1Effet lineaire	40
V.3.4.2 Effet quadratique	40
V.3.4.2.1. Analyse des surfaces de réponse	40
V.3.4.2.2.Volume-masse	40
V.3.4.2.3Temps-masse	41
V.3.4.2.4Temps-volume	42
V.3.4.3 Condition optimales	43
V.4. Test d'évaluation d'activité antioxydante	44
V.4.1. L'activité scavenger sur le radical DPPH	44
V.4.2. Coefficient de corrélation	44
V.4.2.1Effet de facteurs(coefficients)	45
V.4.3.Analyse du modèle mathématique	45
V.4.3.1 1Effet lineaire	45
V.4.3.2Effet quadratique	46
V.4.3.3. Analyse des surfaces de réponse	46
V.4.3.3.1Volume-masse	46

V.4.3.3.2 Temps-masse	46
V.4.3.3.1 Temps-volume	47
V.4.4. Solution	48
Conclusion	50

Liste des abréviations

ERO : Espèces réactives oxygénés

ERN : Espèces réactives azotés

ROO[•] : radical peroxyde

RO[•] : radical alkoxyde

NO[•] : Monoxyde d'azote

O₂^{•-} : Anion superoxyde

ROS : Espèces réactives oxygénées

RNS : Espèces réactives d'azote

OH[•] : radical hydroxyle

CAT : catalase

GSH : glutathion

P : polyphénol

Ac.G : Acide gallique.

BBD : plan de box behnken design

CCD : plan composite centre de design

DPPH : 1,1-diphényl -2-picryl-hydrazyl

E.D : Eau distillée

F.C : Folin – Ciocalteux

EQ : Equivalent Quercétine

FVT : flavonoïde totaux

MSR : Méthode de surface de réponse

PBB : plan box behnken

R² : Coefficient de détermination.

R² ajusté : Coefficient de détermination ajusté.

Rdt : Rendement.

TCP : Taux des composés phénoliques.

Liste Figures

Figure 1	: Répartition géographique du genre <i>Rhanterium</i>	04
Figure 2	: Photos illustrant <i>Rhanteriuma dpressum</i> , (a) pied et (b) fleurs	04
Figure 3	: montre Quelques exemples des acides hydroxybenzoïque	07
Figure 4	: montre Quelques exemples des acides hydroxycinnamiques	08
Figure 5	: montre Structure chimique des flavonoïdes	08
Figure 6	: montre Quelques structures des flavonoïdes	09
Figure 7	: Structure chimique de tannin condensé	10
Figure 8	: montre méthodes d'extractions des composés phénoliques	11
Figure 9	: Génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons	12
Figure 10	: Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse. Les quelques réponses mesurées aux points du plan	17
Figure 11	: Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini la même par l'expérimentateur	18
Figure 12	: Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs	28
Figure 13	: Mécanisme réactionnel de test DPPH (2,2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)	23
Figure 14	: Effet de différentes masses sur CPT. *Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)	27
Figure 15	: Effet volume sur l'extraction des CPT. *Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$).	28
Figure 16	: Effet de différents temps d'extraction sur les CPT. *Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)	29
Figure 17	: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.	32
Figure 18	: Surface de réponse pour les effets volume/masse sur le rendement des composés phénolique du <i>R. dpressum</i>	35

Figure 19	: Surface de réponse pour les effets temps/masse sur le rendement des composés phénolique du <i>R. dpressum</i>	36
Figure 20	: Surface de réponse pour les effets temps/volume sur le rendement des composés phénolique du <i>R. dpressum</i>	37
Figure 21	: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues	38
Figure 22	: Surface de réponse pour les effets volume/masse sur le rendement des composés flavonoidiques du <i>R. adpressum</i>	41
Figure 23	: Surface de réponse pour les effets temps/masse sur le rendement des composés flavonoidiques du <i>R. dpressum</i>	42
Figure 24	: Surface de réponse pour les effets temps/volume sur le rendement des composés flavonoidiques du <i>R. dpressum</i>	43
Figure 25	: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues	44
Figure 26	: Surface de réponse pour les effets volume/masse sur l'activité antioxydante du <i>R. dpressum</i>	46
Figure 27	: Surface de réponse pour les effets temps/masse sur l'activité antioxydante du <i>R. dpressum</i>	47
Figure 28	: Surface de réponse pour les effets temps/volume sur l'activité antioxydante du <i>R. dpressum</i>	48

Liste tableaux

Tableau 1	: les principales classes de composés phénolique	6
Tableau 2	: Classification des flavonoïdes	8
Tableau 3	: Principaux mode d'action de quelques antioxydants	14
Tableau 4	: Différents types des plans d'expériences	16
Tableau 5	: Matrice expérimentale du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs	19
Tableau 6	: Les domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation des composés phénoliques du <i>Rhanteriuma dpressum</i>	30
Tableau 7	: Conditions optimales d'extraction des composés phénoliques par ultrason	31
Tableau 8	: la 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)	31
Tableau 9	: L'analyse de la variance des modèles polynomiaux de second ordre	32
Tableau 10	: Coefficients de régression et leurs significations statistiques	33
Tableau 11	: Conditions optimales d'extraction des composés phénoliques par ultrason (mg EAG /g	37
Tableau 12	Les coefficients de régression estimés du modèle polynomial du second degré	39
Tableau 13	Conditions optimales d'extraction des composés flavonoidiques par ultrason (mg EAG/g MS).	43
Tableau 14	Les coefficients de régression estimés du modèle polynomial du second degré	45
Tableau 15	Conditions optimales de l'activité scavenger DPPH par ultrason (mg EAAC/g de MS).	48

1. Introduction

Depuis l'antiquité, les plantes étaient vénérées pour des vertus qu'on leur avait reconnues, personne ne cherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissent, mais c'était un fait incontesté qui paraissait magique. Ce n'est qu'au début du 20ème siècle, que les scientifiques ont commencé à s'intéresser à leurs propriétés biologiques afin de mieux les connaître et pour une meilleure utilisation, et qui servira souvent de guide pour la recherche et la découverte de nouveaux traitements [1].

De ce fait, l'industrie agroalimentaire développe et recourt à l'utilisation des antioxydants naturels, parmi lesquelles on trouve dans une grande mesure la famille des polyphénols. En effet, ces composés sont largement présents dans notre alimentation (fruits et légumes) et ils font actuellement l'intérêt de nombreuses études car en plus d'un intérêt certain dans la conservation des denrées comestibles pour l'industrie agroalimentaire, ils peuvent s'avérer utiles dans le traitement de nombreuses pathologies [2]. La quantité et la qualité des polyphénols dans les végétaux peuvent varier sensiblement en fonction des différents facteurs. Une série de facteurs est liée à la culture et la génétique des plantes, aux pratiques agricoles, à la fertilité du sol, aux conditions climatiques, à la présence de ravageurs et les moyens de lutte contre eux. Une autre série de facteurs prennent leurs origines au moment où la plante quitte la ferme ou elle a été cultivée et est acheminée vers le consommateur. Les facteurs liés à la conservation et à la préparation des aliments ont également une incidence importante sur le taux de ces substances [3].

Il est très difficile de développer une méthode d'extraction normalisée qui est capable extraire tous les composés phénoliques inséparables [4]. L'extraction dépend du type de solvant, de la nature et de la préparation du matériel à extraire, de la structure chimique des composés phénoliques, de la température, de temps d'extraction, de rapport solide-liquide et de la taille des particules. L'extraction solide-liquide, est communément utilisée pour l'isolement des composés phénoliques du matériel végétal. La sélection du solvant est l'une des plus importantes étapes de l'extraction. Le méthanol, éthanol ou le propanol et leurs mélanges avec l'eau, ainsi que l'acétone, l'éthyle acétate et le diméthylformamide sont jusqu'à présent les solvants les plus utilisés dans l'extraction de composés phénoliques des matériaux végétaux [4].

Notre étude porte sur un végétal Méditerranéen très réputé en Algérie, *Rhantheriuma dpressum* Coss. & Durieu. plus communément connu sous le nom d'arfaj Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle dans la région du Sud de l'Algérie pour ses propriétés

antidiurétiques [3], elle est aussi utilisée par les populations de cette région notamment pour le tannage.

Afin de tirer bénéfice et pour une meilleure valorisation l'industriel une bonne maîtrise des conditions d'extraction des polyphénols existants dans le *Rhantheriuma dpressum* s'avère nécessaire Le but de cette étude est de doser les teneurs en composés bioactifs tels que les composés phénoliques totaux et les flavonoïdes. Et pour évaluer l'influence des différents paramètres expérimentaux (solvant, temps, masse) sur la teneur en composés phénoliques et l'activité antioxydante, on a procédé à une optimisation afin de déterminer les conditions optimales d'extraction de ces derniers afin d'obtenir le meilleur rendement en composés phénoliques et la meilleure activité antioxydante.

Dans ce contexte nous avons réalisé un travail comprenant trois chapitres, le premier est une étude bibliographique qui comporte une description de la plante étudiée, des généralités sur les polyphénols et certaines méthodes d'extractions de ces composés. Le deuxième chapitre illustre la partie expérimentale qui se divise en deux axes : L'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques de la plante étudiée par une méthode d'extraction (Ultrasons), puis l'étude du pouvoir antioxydant. Le troisième chapitre est consacré à la présentation, l'analyse et l'interprétation des résultats obtenus par la méthode de surface de réponse (MRS) développée par le plan de Box Behenken (BBD).

Une conclusion générale est donnée à la fin du présent travail en tirant les principaux résultats obtenus. Ces derniers pourraient stimuler d'autres travaux de recherche dans le sens de servir et de valoriser le patrimoine national dans le domaine des plantes médicinales.

1. Introduction

Le genre *Rhantherium* appartient à la famille des composées, sous famille tubuliflore et la tribu Inulée. Ce genre est endémique à l'Afrique du Nord et la péninsule arabique compte seulement sept espèces [5]

- *Rhantherium adpressum* Coss. & Durieu.
- *Rhantherium epapposum* Oliver
- *Rhantheriuma pressum*
- *Rhantherium. suaveolens* Desf.
- *Rhantherium. intermedium* Coss. & Durieu ex Pomel
- *Rhantherium. incrassatum*,
- *Rhantherium. Squarrosum*

1.2. Description Botanique du genre

Ce sont des plantes à capitules hétérogames, multifides, radiées. Fleurs jaunes, les marginales ligulées à ligules unisériées, femelles et 3-dentées ; les centrales tubuleuses et hermaphrodites. Involucre campanulées, à bractées imbriquées sur plusieurs rangs, coriaces, lancéolées, surmontées d'un appendice étalé, arqué en dehors, subulé, triquètre, corné, spinescent. Réceptacle plant, muni de paillettes linéaires-lancéolées, membraneuses sur les bords. Calathide composée au centre de fleurs nombreuses, régulières, hermaphrodites; et à la circonférence de fleurs en languettes et femelles. L'ovaire des fleurs centrale et oblong, glabre, muni à la base d'un petit bourrelet, surmonté d'une aigrette formée de cinq paillettes filiformes, presque soudées par la base et légèrement plumeuses à leur sommet. Les corolles sont glabres, à cinq divisions très aigues ; les anthères sont munies à leur sommet d'appendices très aigus.

Dans les fleurs de la circonférence, l'ovaire est presque entièrement enveloppé par chacune des folioles intérieures de l'involucre ; l'aigrette est nulle ou réduite à une seule paillette rudimentaire et latérale; les corolles sont en languettes oblongues élargies et tridentées au sommet [6].

1.3. Distribution géographique :

Ce genre est réparti sur l'ouest de l'Afrique du Nord (en Algérie et à la frontière du Maroc oriental), de la péninsule arabique, de l'Irak et de l'Iran (Figure 1)[7].

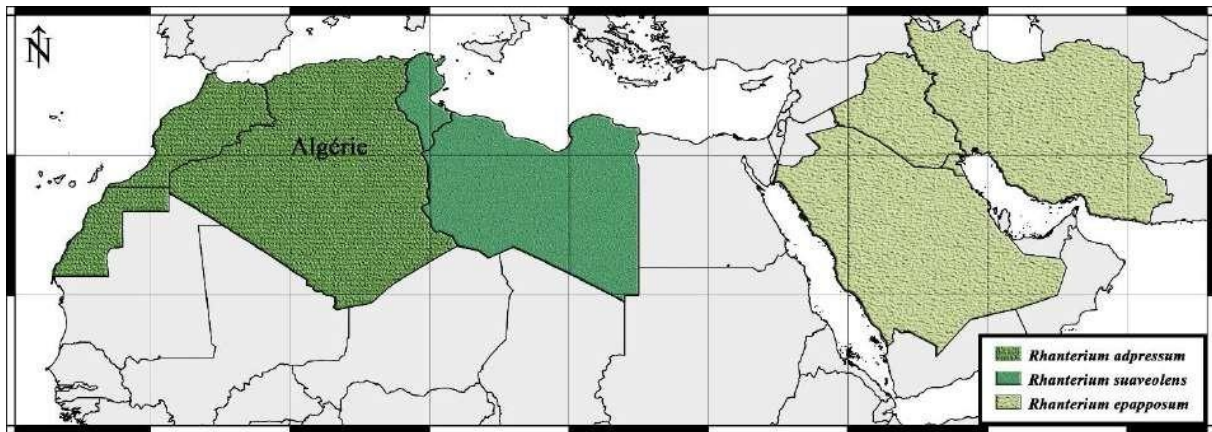


Figure 1 : Répartition géographique du genre *Rhantherium* [8].

1.4. *Rhantherium adpressum*

Le *R. adpressum* est très apprécié par les dromadaires. Cette plante est utilisée en médecine traditionnelle dans la région du Sud de l'Algérie pour ses propriétés antidiurétiques, elle est aussi utilisée par les populations de cette région notamment pour le tannage. En plus, la population Iranienne l'utilise pour son effet rafraîchissant de la peau [9]

1.4.1. Description botanique

Le *R. adpressum*, illustré dans la Figure 2, est un arbuste très ramifié, pouvant atteindre 20 à 60 cm de hauteur. Les feuilles sont de couleur vert pale, sessiles, alternes, petites, épineuses, dentées avec des branches monocéphalique. Les jeunes feuilles sont d'abord appliquées, comme des écailles contre la tige, puis, en grandissant, elles s'en écartent. Les fleurs jaunes, disloquées ; ligules femelles tri-dentées, fleurons hermaphrodites à 5 dents, échelles qui se chevauchent et canaux cylindriques, étroits, avec 4-5 épines. Ces fleurs jaunes lumineuses sont en capitule et les bractées de l'involucre sont recourbées vers l'extérieur. Les capitules comportent une rangée de fleurs ligulées. L'odeur des fleurs est aromatique. Elle est intense et caractéristique [8].



Figure 2: Photos illustrant *Rhantherium adpressum*, (a) pied et (b) fleurs

I.4.2. Classification systematique de la plante

- Règne : *Plantae*
- **Embranchement** : Spermaphytes (plantes à graines)
- **Sous embranchement** : Angiospermes (plantes à fleurs)
- **Classe** : Magnolipsida (Dicotylédones)
- **Sous classe** : Magnoliidae
- **Super ordre** : Asterids
- **Ordre** : Asterales
- **Sous ordre** : *EuasteridsII*
- **Famille** : *Asteriaceae(Compositae)*
 - **Genre** : *Rhantherium*
 - **Espèce** : *Rhantheriuma dpressum* Coss. & Durieu

1.4.3. Habitat et Répartition géographique

Selon Tela Botanica l'espèce *Rhantheriuma dpressum* est une plante endémique de l'Algérie (Sefra, Mzab, Laghouat, Bou-Saûda et Biskra) et du Maroc [9].

II .Les composés phénoliques

II .1. Introduction

Les composés phénoliques ou polyphénols sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec un glucide. Ils sont présents dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliqués dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la rhizogenèse, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins [10].

II .2. Classes des polyphénols

Les composés phénolique peuvent être regroupés en de nombreuse classes (Tab.1) qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C6 à des formes très polymérisées), ensuite par le degrés de modifications de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...), enfin par les protéine, autres métabolite secondaire peuvent être ou non des composés phénoliques ...)[11].

Tableau 1 :les principales classes de composés phénolique [11].

Squelette carboné	Classe	Exemple	Origine (exemple)
C6	Phénols simple	Catéchol	
C6-C1	Acides hydroxybenzoïques	p-Hydroxybenzoïques	Epices, fraise
C6-C3	Acides hydroxycinnamique	Acide caféique, acide férulique	Pomme de terre, pomme
	Coumarines	Scopolétine, esculétine	Citrus
C6-C2-C6	Stilbènes	Resvératrol	Vigne
C6-C3-C6	Flavonoïdes		
	• Flavonols	Kaempférol, quercétine	Fruits, légumes, fleurs
	• Anthocyanes	Cyanidine, pélargonidine	Fleurs, fruits rouges
	• Flavanols	Catéchine, épicatechine	Pomme, raisin
	• Flavanones	Naringénine	Citrus
• Isoflavonoïdes	Daidzéine	Soja, pois	
(C6-C3)2	Lignanes	Pinorésinol	Pin

(C6-C3) _n	Lignines	Bois, noyau de fruits
(C15) _n	Tannins	Raisin rouge, kaki

II.2.1. Les formes les plus simples :

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C₆ (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavonoïdes en C₁₅ et à des molécules proches. Sauf exceptions, ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole :

A/Acides hydroxybenzoïques

- Sont des dérivés de l'acide benzoïque (**Figure 4**).
- Ont une structure générale de base de type (C₆-C₁).
- Existents souvent sous forme d'esters ou de glycosides.

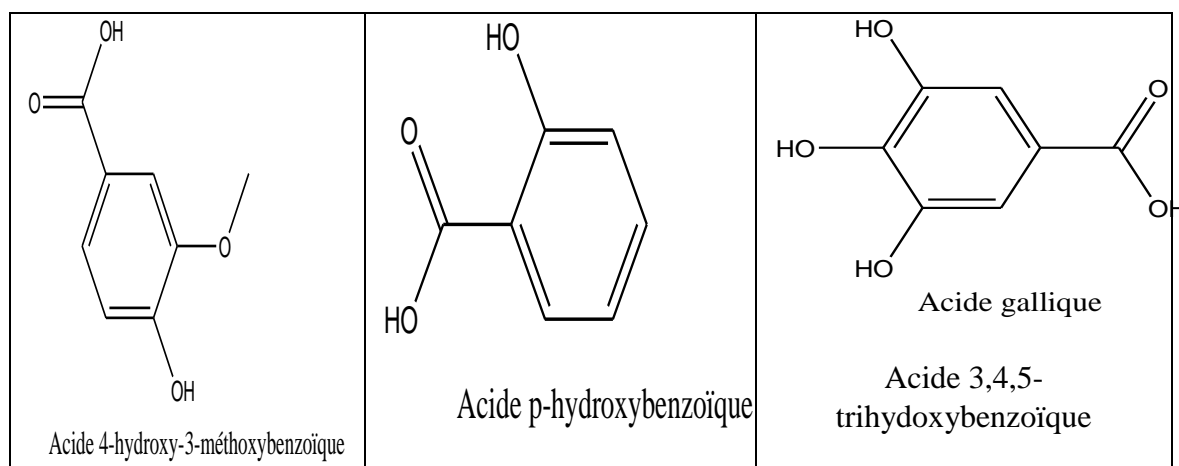


Figure 3 : montre Quelques exemples des acides hydroxybenzoïque

B/Acide hydroxycinnamiques :

- Dérivent de l'acide cinnamique (figure 5).
- Ont une structure générale de base de type (C₆-C₃).
- Existents souvent sous forme combinée avec des molécules organiques.
- Le degrés d'hydroxylation du cycle benzénique et son éventuelle modification par des réaction secondaires (par méthylation chez les acides férulique ou sinapique) sont un des éléments importants de la réactivité chimiques de ces molécules.

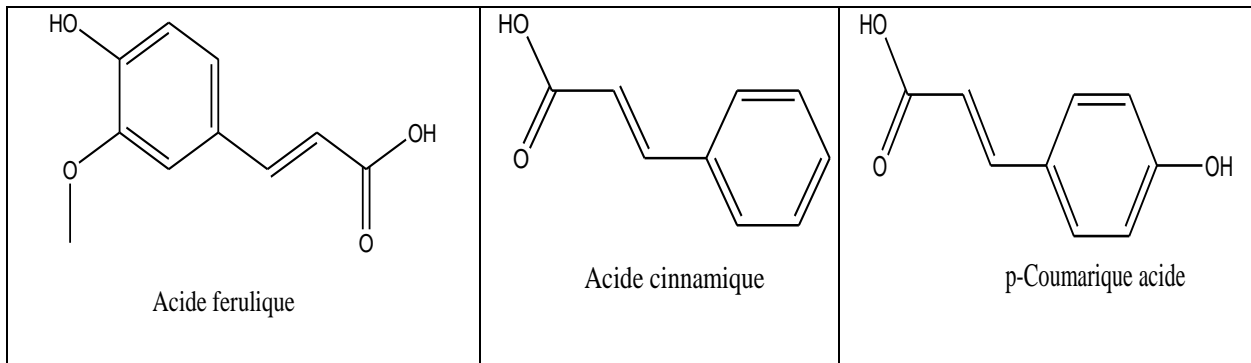


Figure 4 : montre Quelques exemples des acides hydroxycinnamiques

c/ Flavonoïdes

- + Les flavonoïdes constituent un groupe de plus de 6000 composés naturels qui sont quasiment universels chez les plantes vasculaires.
- + Ils constituent des pigments responsables des colorations jaune, orange, et rouge de différents organes végétaux.
- + Tous les flavonoïdes possèdent la même structure de base (C6-C3-C6) (figure 6) [12].

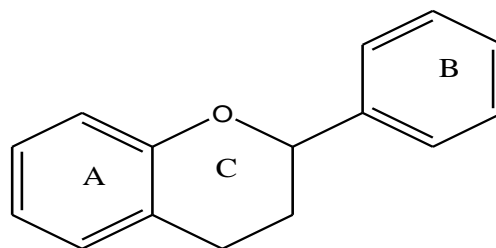


Figure 5 : montre Structure chimique des flavonoïdes

II.2.2. Classification

Les flavonoïdes sont eux-mêmes classés en fonction de leur degré d'oxydation en 6 grandes classes (**Tableau 2**)

Tableau 2 : Classification des flavonoïdes

Classes	Molécules
Flavanols	Catéchine
Anthocyanidines	Cyanidine, pelargonidine

Flavones	Apigénine, diosmine, luteoline
Flavanones	Naringénine, naringine, hespétine, hespédine
Chalcones	Phloretine, phloridzine
Flavonols	Quercétine, kaempférol, myricétine, fisétine, morine

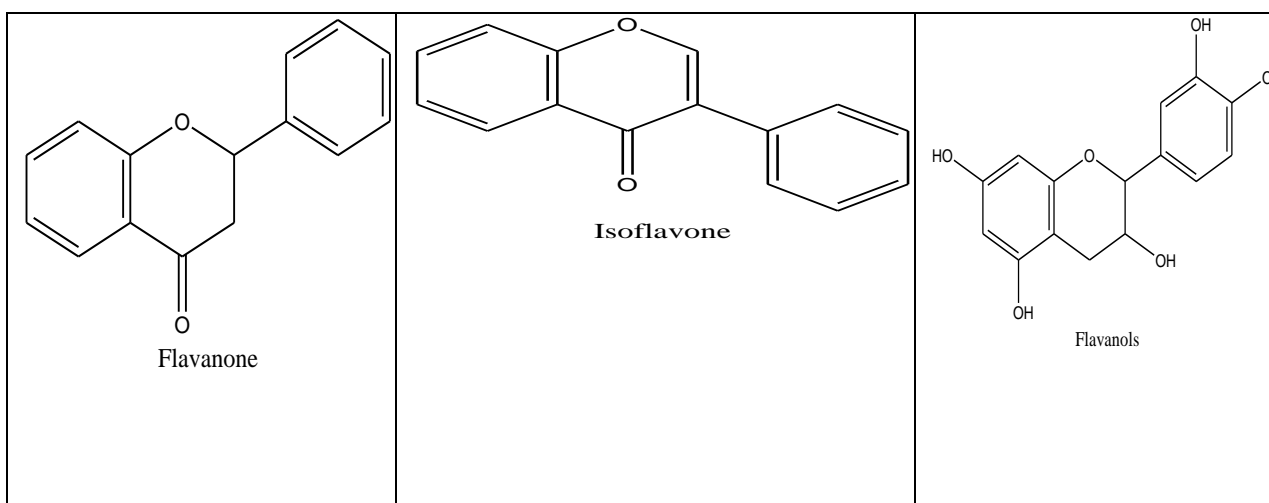


Figure 6 : montre Quelques structures des flavonoïdes

II.2.3. Les formes condensées

Ces formes résultent de la condensation de certaines des formes simples évoquées précédemment. Selon la nature des constituants impliqués et selon le type de condensation, on obtient [13].

C/ Les tanins : on distingue 2 grands groupes :

- **Tanins hydrolysables** : sont des esters de glucides et d'acides phénoliques, ou de leurs dérivés. Les molécules glucidiques sont en général du glucose, mais dans certains cas ils peuvent se présenter en tant que polysaccharides [13].

- **Tanins condensés** : Les tanins condensés, appelés aussi procyanidines ou proanthocyanidine, sont largement répandus dans les tissus végétaux. Ce sont des polyphénols de masse molaire élevée. Ils résultent de la polymérisation des unités de flavan-3-4-diol liées par des liaisons C4-C8 [14]

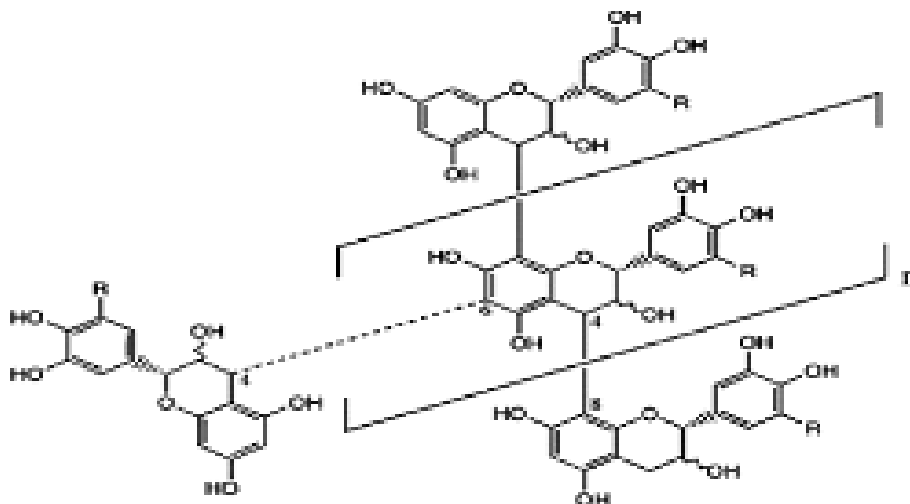


Figure 7 : Structure chimique de tannin condensé

D/Les lignines : les lignines résultent de la polymérisation tridimensionnelle de 3 molécules phénoliques de base dénommées monolignols et qui sont les alcools coumarylique, conifénilique et sinapylique [14].

II.3. Méthodes d'extractions des composés phénoliques

L'isolement des composés phénoliques des plantes par extraction est généralement un processus très difficile compte tenu de la variété de composés qu'il est possible de trouver dans les échantillons naturels. L'obtention de rendements élevés est parfois compliquée et par conséquent des soins doivent être pris pendant la manipulation afin d'éviter les modifications chimiques qui peuvent survenir lors du processus d'extraction en raison de l'activité enzymatique élevée des échantillons naturels [15] et Cette étape est généralement très complexe et dépend de plusieurs paramètres comme :

- ❖ la taille des particules de l'échantillon
- ❖ le procédé d'extraction
- ❖ le temps d'extraction

- ❖ les conditions de stockage
- ❖ la présence de composés qui peuvent interférer

Les composés phénoliques sont isolés du matériel végétal par plusieurs techniques conventionnelles et non conventionnelles. et pour le choix de la méthode d'extraction dépendra de la nature des composés comme la classe de molécule phénolique telle que les flavonoïdes, les acides phénoliques et glycosides et de la nature de l'échantillon (grains, feuilles, racines) [16].

Techniques conventionnelles

- Macération
- Extraction solide- liquide
- Soxhlet

Techniques vertes

- Extraction liquide sous pression (PLE)
- Extraction par fluide supercritique
- Ultrasons
- Micro-ondes (MAE)

Inconvénients:

- Grands volumes en solvant
- Période d'extraction longue
- Risque d'oxydation des composés bioactifs extraits

Avantages:

- Rapidité
- Sélectivité
- Faible volume en solvant
- Augmentation du rendement d'extraction

Figure 8 : montre méthodes d'extractions des composés phénoliques

II.3.1. L'extraction assistée par ultrason

Les ultrasons sont des ondes vibrationnelles mécaniques de fréquence allant de 16 KHz à 1 GHz pouvant se propager dans les solides, les liquides et les gaz. Dans un milieu liquide, la propagation des ondes va générer des cycles successifs de compression (haute pression) et de raréfaction (basse pression) [17]. L'effet des ultrasons sur un fluide est dû à l'action de la pression acoustique hydrostatique sur le milieu. A basse intensité, la pression acoustique

induit un mouvement à l'intérieur du fluide. Pendant la phase d'expansion d'un cycle, à des intensités élevées, la pression locale diminue sous la pression de vapeur de liquide causant l'augmentation de bulles créées à partir de noyaux gazeux existant dans le fluide (Figure 10). Cette augmentation génère des pressions de transition négatives et produit de nouvelles cavités par l'effet de tension sur le fluide. Au moment de la dimension critique les bulles implosent pendant le cycle de compression. Ce processus de compression-raréfaction des molécules du milieu et le collapse de bulles est appelé « cavitation » [18].

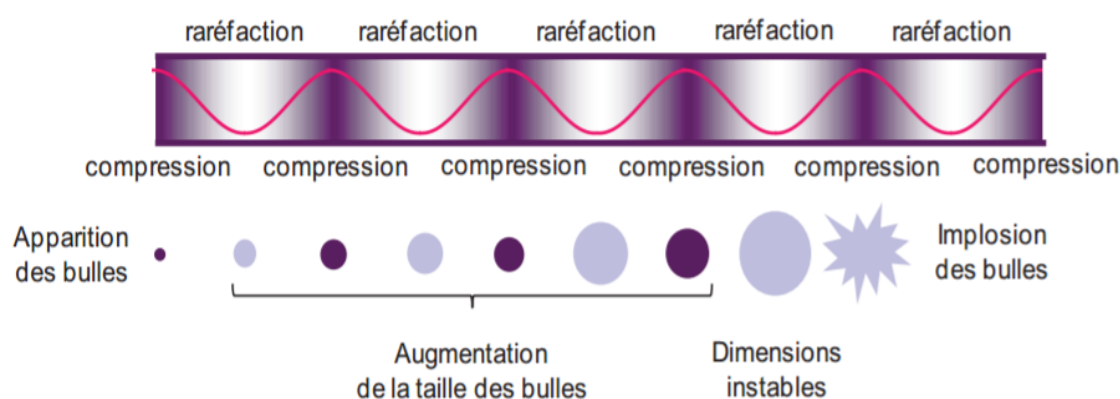


Figure 9 : Génération des bulles de cavitation par l'action des ultrasons

II.3.2. Les avantages de cette méthode

- ✚ Cette méthode est simple, efficace et peu coûteuse.
- ✚ offre une augmentation du rendement d'extraction et une accélération de la cinétique.
- ✚ permet de travailler à des températures relativement basses et d'éviter la thermodestruction des composés.
- ✚ Elle est facile à mettre en œuvre, permet d'utiliser une large gamme de solvant afin d'obtenir différents composés naturels. Cependant, l'effet de l'extraction par ultrasons sur le rendement et la cinétique d'extraction est lié à la nature de la matrice végétale. La présence d'une phase dispersée mène à l'atténuation des ondes ultrasonores et les zones actives dans l'extracteur restent à proximité de l'émetteur d'ultrasons [16]

II.4. Activité antioxydantes

II.4.1.Introduction

Qu'est-ce qu'un radical libre?

Un radical libre se définit comme tout atome, groupe d'atomes ou molécules possédant un électron non apparié (célibataire) sur leur orbitale externe. s'agit d'espèces chimiques très réactives qui cherchent dans leur environnement un électron pour s'apparier (c'est-à-dire pour former une liaison chimique)[19].

Les radicaux libres qui proviennent de l' O_2 sont appelés espèces réactives oxygénés (ERO) incluant essentiellement l'anion superoxyde ($O_2^{\cdot-}$) et le radical hydroxyle (OH^{\cdot}). Les radicaux libres qui sont générés de la réaction de l'oxygène avec l'azote sont appelés espèces réactives azotés (ERN) notamment le monoxyde d'azote (NO^{\cdot}) et le dioxyde de nitrogène (NO_2^{\cdot}) [20].

Parmi toutes les espèces radicalaires susceptibles de se former dans les cellules, il convient de distinguer un ensemble restreint de composés radicalaires qui jouent un rôle particulier en physiologie et que nous appellerons radicaux libres primaires, qui dérivent directement de l'oxygène. Les autres radicaux libres, dits radicaux secondaires (radical peroxy ROO^{\cdot} , radical alkoxy RO^{\cdot}), se forment par réaction de ces radicaux primaires sur les composés biochimiques de la cellule [21].

II.4.2. Rôle des radicaux libres

Les radicaux libres exercent de nombreuses fonctions essentielles dans l'organisme, ils contrôlent le flux sanguin dans les artères pour lutter contre l'infection. Certains radicaux libres tels que NO et $O_2^{\cdot-}$ sont produits en très grandes quantités par les cellules immunitaires, pour détruire les virus et les bactéries et tuer les cellules cancéreuses [21]. Leur rôle physiologique est impliqué dans la régulation des cascades de signalisation intracellulaire dans divers types de cellules. En bref, les ROS et les RNS à des niveaux faibles ou modérés sont vitales pour la santé humaine [22].

II.4.3. Définition des antioxydant

Les antioxydants sont des substances endogènes ou exogènes capables de neutraliser ou de réduire les dommages causés par les radicaux libres dans l'organisme. Le corps produit des antioxydants, et on en trouve également dans plusieurs aliments. Les principaux antioxydants sont les vitamines C et E, les caroténoïdes et le sélénium. Les antioxydants permettent,

également de faire en sorte que les produits alimentaires conservent leur goût et leur couleur et demeurent longtemps comestibles. Leur utilisation est particulièrement importante si l'on veut éviter l'oxydation des lipides et des produits contenant des lipides [23].

II.4.4. Modes d'action des antioxydant

Dans l'organisme, il existe plusieurs types de molécules à activité antioxydante dont les mécanismes d'action sont différents (Tableau 3) [24].

Tableau 3 : Principaux mode d'action de quelques antioxydants

	NATURE	MODE D'ACTION
Défenses non enzymatiques	Vitamine E	
	Vitamine C	
	Bêtacarotène	
	Bêtacarotène	
	Bêtacarotène	Fixation des métaux de transition
	Ubiquinone, acideurique...	
Défenses enzymatiques	Superoxyde dismutase	Catalyse la dismutation de l'anion superoxyde
	Catalase	Métabolise H ₂ O ₂
	Glutathionperoxydase	Action réductrice sur H ₂ O ₂ et les hydroperoxydes

Selon leur mode d'action, les antioxydants sont classés en deux catégories :

- Système de défense primaire : ex : la catalase (CAT), le glutathion (GSH). Ces antioxydants préviennent la production de ROS en limitant la phase d'initiation des réactions d'oxydation. Ils agissent donc en prévention.

- Système de défense secondaire : ex : les tocophérols. Ces molécules sont dites « chainbreaking ». Elles réagissent avec les ROO° et/ou les R°, bloquant ainsi les réactions de propagation. Ce type d'antioxydant permet d'éviter le passage de formes peu réactives (O₂⁻) à très réactives (OH°).

III. Généralités sur les plans d'expériences

III.1.1 Définition

Le plan d'expérience est une technique qui permet de quantifier les effets de divers facteurs sur une réponse dans des domaines expérimentaux bien déterminés dans le but de les optimiser. L'élaboration d'un plan d'expérience commence par l'extraction d'un nombre suffisant de combinaisons à partir du domaine d'étude, pour estimer avec une incertitude, à la fois minimale mais aussi homogène, les coefficients du modèle polynomiale en respectant les contraintes qui peuvent être liées à l'étude quel soit technique ou bien économique [25].

III.1.2. Principe

La technique des plans d'expériences, basée sur l'élaboration d'une série de tests expérimentaux, consiste à faire varier simultanément les niveaux de un à plusieurs facteurs à chaque essai. Par rapport à une optimisation classique qui peut conduire à un nombre considérable d'expériences, cette méthodologie va permettre de diminuer le nombre d'expériences à réaliser, tout en augmentant le nombre de renseignements obtenus sans altérer la qualité des résultats. Outre l'influence de chaque facteur, il est possible d'obtenir des informations sur les interactions entre facteurs étudiés, et sur les paramètres optimaux par rapport à une réponse qui est une grandeur caractéristique de l'étude réalisé [26].

III.1.3. Les avantages

Les plans d'expériences présentent beaucoup d'avantages, comme :

- ✚ Diminution du nombre des essais [27]
- ✚ la possibilité d'utiliser un grand nombre de facteurs [28]
- ✚ Détection des interactions entre facteurs .
- ✚ Meilleure précision sur les résultats .
- ✚ évaluer des représentations graphiques des réponses obtenues à la sortie en fonction des paramètres d'entrée et d'utiliser un modèle mathématique répondant aux objectifs à atteindre suivant le besoin [27]. Il existe de nombreux plans d'expériences adaptés à tous les cas rencontrés par un Expérimentateur, dont les plus utilisés : le composite et Box-Behnken [28].

III.1.4. Types

✚ Il existe différents types des plans d'expériences, qui peuvent être regroupés en deux grandes familles [27]:

Tableau 04: Différents types des plans d'expériences.

Plans de criblage	Plans de modélisation
Plans à un facteur à la fois	Plans factoriels complets
Plans factoriels fractionnaires	Plans non conventionnels
Plans sursaturés	Plans composites centré
Plans factoriels complets	Plans de Doehlert
/	Plans de Box-Behnken
/	Plans de Roquemoire
/	Plans de D-optimaux
/	Plan de mélange
/	Plan de plaquette et Burmane

III.1.5. Domaine d'utilisation

Ils interviennent dans de nombreux domaines industriels. On peut notamment citer :

- Industrie agroalimentaire
- Industries chimiques, pétrochimiques et pharmaceutiques
- Industries mécaniques et automobiles
- Industries métallurgiques [29].

III.1.6. Terminologie

- **Réponses:**

Une réponse expérimentale ou variable dépendante, est une manifestation mesurable que l'on observe lorsqu'on fait varier les facteurs étudiés.

➤ **Facteur:**

On appelle facteur, toute série d'éléments de même nature conditionnant le phénomène étudié. Un facteur peut être qualitatif ou quantitatif, continu ou discontinu, contrôlable ou non contrôlable.

- Les facteurs contrôlés sont effectivement étudiés au cours d'une expérience.

Les facteurs non contrôlés sont les facteurs difficilement maîtrisables et sont la source de variations, résiduelles car fréquemment considérés comme aléatoires.

- Les facteurs bruit ont des effets supposés ou réels, et qui ne s'exercent que sur la dispersion ou la qualité des résultats [30].

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

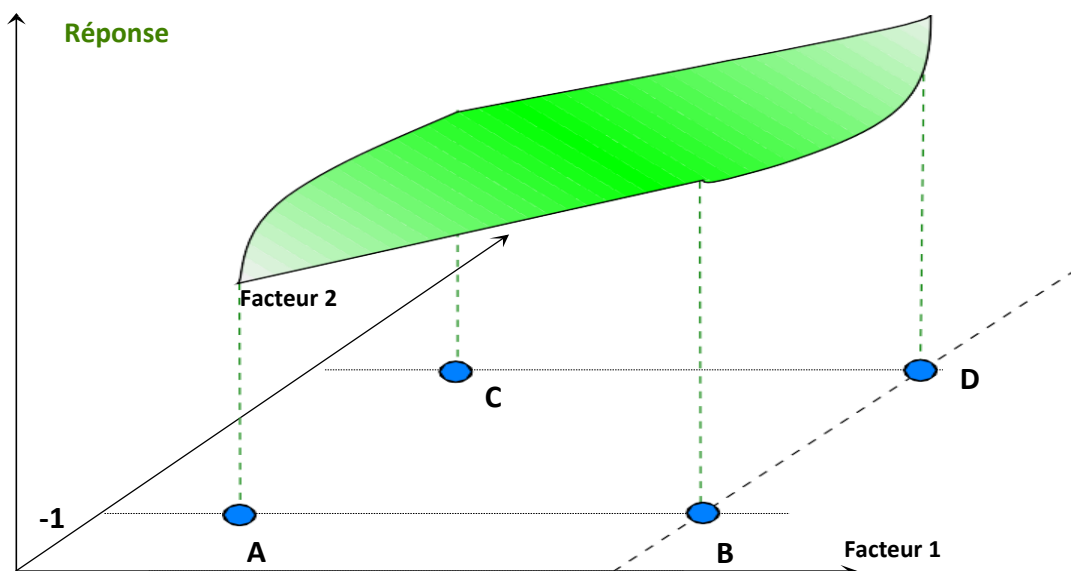


Figure 10 : Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse. Les quelques réponses mesurées aux points du plan [31].

➤ **Bloc:**

Un bloc est le regroupement selon des critères bien définis des unités expérimentales (supposées ou sont) homogènes.

➤ **Erreur:**

Variation non expliquée d'un ensemble d'observations .

➤ **Domaine expérimental et domaine d'étude:**

Le domaine expérimental est l'espace défini par la variation des facteurs quantitatifs et/ ou par les combinaisons des modalités des facteurs qualitatifs. 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 multiplète dimensionnel, dans lequel chaque point représente un "traitement" [30].

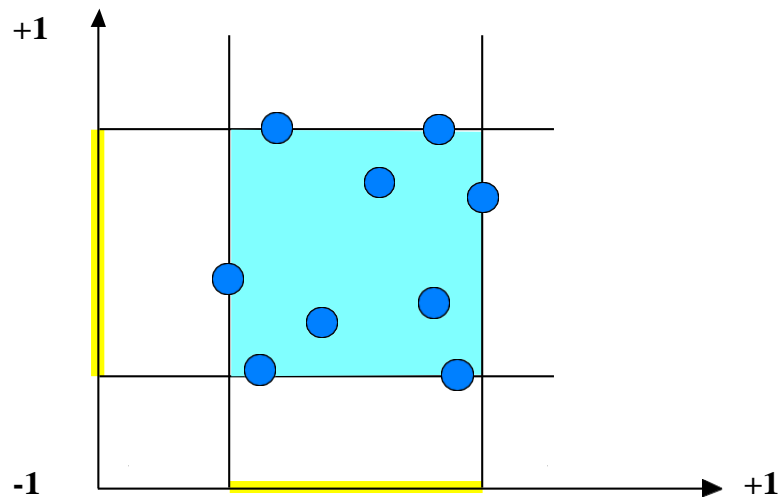


Figure 11 : Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini la même par l'expérimentateur [31].

III.2.2. Plan de box behnken à trois facteurs

C'est le premier plan de Box-Behnken. Les points expérimentaux de ce plan sont situés aux milieux des arêtes du cube (Figure 12).

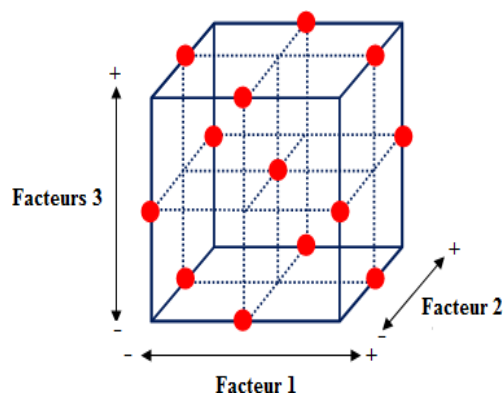


Figure 12: Plan de Box-Behnken pour 3 facteurs

Le cube possède 12 arêtes. On a l'habitude d'ajouter les points d'expérience au centre du domaine d'étude, en général trois. Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs a donc: 12 + 3 essais, soit 15 essais, c'est le plan classique indiqué par Box-Behnken. Toutefois les trois essais supplémentaires sont utilisés pour l'analyse statistique.

Les points situés au centre d'une arête ont pour coordonnées ; 0 ; ± 1 ; ± 1 . La construction du plan suit le principe suivant : deux facteurs décrivent un carré (4 essais d'un plan 2^2) et les coordonnées correspondantes du troisième facteur valent zéro [30].

Le tableau 5 présente la matrice expérimentale du plan de box-behnken pour 3 facteurs [31]

Tableau 5 Matrice expérimentale du plan de Box-Behnken pour 3 facteurs

n° essai	Facteur1	Facteur2	Facteur3
1	0	0	0
2	-1	0	1
3	1	-1	0
4	0	-1	-1
5	-1	-1	0
6	1	0	1
7	0	1	-1
8	0	0	0
9	1	1	0
10	1	0	-1
11	-1	1	0
12	0	-1	1
13	-1	0	-1
14	0	1	1
15	0	0	0

III.3. Modèle mathématique postulé :

Une loi d'évolution générale est donnée lors de l'absence de toute information concernant la fonction qui met en relation la réponse aux facteurs, elle est du type [28]

$$Y = f(X_1, X_2, X_3, \dots, X_n) \dots \dots \dots (1).$$

Etant trop générale, il en est d'usage de prendre un développement limité de Taylor-Marc Laurin. Le développement précédent prend la forme d'un polynôme de degré plus au moins élevé si les dérivés sont considérés comme des constantes, elle s'écrit :

$$Y = a + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \sum a_{ii} x_i^2 + \dots \dots \dots + e \dots \dots \dots (2).$$

On a :

Y : c'est la réponse ou grandeur d'intérêt.

x_i : représente un niveau du facteur i.

x_j: représente un niveau de facteur j.

a₀, a_j, a_{ij}, a_{ii} : sont les coefficients du polynôme.

e : L'erreur

Matériel et Méthodes.

IV.1. Matériel végétal

Les parties aériennes du *Rhanteriuma dpressum* (fleurs, tiges et feuilles) ont été collectées au 18/03/2017 de la région zelfana (670 km sud d'Alger) . Le matériel végétal a été nettoyé, étalé sur papier, laissé à température dans une pièce aérée à l'abri de la lumière pendant une semaine ou plus et protégé de l'humidité. Une fois séché, les parties aériennes du *Rhanteriuma dpressum* ont été broyées, tamisées et conservées dans des sacs en papier jusqu'à leurs utilisations.

IV.1.1. Protocole utilisé pour l'extraction

L'extraction solide/liquide est une méthode de séparation physique pour dissoudre une substance précieuse contenue dans une substance solide à l'aide d'un solvant adapté.

Dans notre travail nous avons utilisé l'extraction par bain ultrason, cette technique est maintenant bien connue pour avoir des effets significatifs sur la cinétique de certaines réactions chimiques ou encore sur la réduction du temps des procédés industriels.

IV.2. Optimisation des conditions d'extraction

IV.2.1. Etude préliminaire

Le modèle expérimental est divisé en deux parties. Des essais préliminaires sont effectués, selon le modèle classique d'extraction en variant un paramètre et fixant les autres. Ces essais préliminaires sont effectués sur la matière végétale du *R. adpressum* pour déterminer les paramètres influençant sur l'extraction des composés phénoliques du *R. adpressum*, à savoir le volume de solvant, le temps d'extraction, ainsi que la masse d'extraction.

IV.2.2. Analyse préliminaire

L'objectif de l'étude préliminaire des conditions d'extraction a été de sélectionner à partir d'un intervalle de chaque facteur, la valeur qui permet de donner le maximum de rendement des composés phénoliques totaux, en variant l'un des trois paramètres étudiés et fixant les deux autres et ainsi de suite. L'étude préliminaire a été répétée trois fois.

IV.2.2.1. La masse de l'extraction

A un temps de 15 min et un volume de méthanol de 20 ml, les échantillons ont été extraits avec des masses qui varient de 0.5 à 3g. Tous les extraits ont été filtrés et le méthanol a été éliminé à l'aide du rota-vapeur à 45°C.

IV.2.2.2. Le volume du solvant

L'extraction a été effectuée en plusieurs séries de volume de méthanol dans un intervalle (20-70 ml). Tandis que le temps et la masse sont fixés à 15 min et 1,5g, respectivement. Les extraits ont été filtrés et le méthanol a été éliminé à l'aide du rota-vapeur à 45°C.

IV.2.2.3. Le temps d'extraction

1,5g de poudre du *R. adpressum* été mélangée avec 50 ml de méthanol pure et placée dans un appareil ultrasonique (JoidentUltrasonic- Cleaner, METO 5, Ningbo, Chine) avec un temps d'extraction qui varie entre (5 min à 35 min). L'extrait a été filtré et le méthanol a été éliminé à l'aide du rota-vapeur 45°C.

IV.3. Dosage des composés phénoliques totaux (CPT)

Le dosage des polyphénols totaux est effectué avec le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu selon la méthode cité par [1].

IV.3.1. Principe

Le réactif de FolinCiocalteu est un acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$). Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

La coloration produite, dont l'absorption maximum à 760 nm, est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [32].

IV.3.2. Mode opératoire

500µl réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 10 fois) ont été mélangés avec 100µl d'extrait après 2 minutes, 2 ml de carbonate de sodium à 2% ont été rajoutés et l'absorbance a été mesurée à 760nm contre un blanc après 30 minutes d'incubation à 25°C.

IV.3.1.Expression des résultats

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire $y = a x + b$ réalisé par un standard étalon « acide gallique » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (mg EAG/g d'extrait).

II.4. Dosage des flavonoïdes totaux (FVT)

La teneur en flavonoïdes des extraits a été déterminée en utilisant la méthode colorimétrique au trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) [33].

IV.4.1. Principe

Le trichlorure d'aluminium forme un complexe jaune avec les flavonoïdes et la soude forme un complexe de couleur rose absorbe dans le visible à 430 nm [33].

IV.4.2. Mode opératoire

1 ml du chlorure en aluminium (AlCl_3 2%) a été ajouté à 1 ml d'extrait. Le mélange a été agité, le mélange est laissé pendant 15 min puis la lecture se fait à 430nm, Les résultats sont exprimés en mg équivalent Quercétine/g de matière végétale sèche en se référant à la courbe d'étalonnage du quercétine.

IV.4.2. Expression des résultats

La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire $y = a x + b$ réalisé par un standard étalon « la Quercétine » à différentes concentrations et exprimée en microgrammes d'équivalents de la Quercétine par milligramme d'extrait (mg EQ/g d'extrait).

IV.5. Test DPPH (2, 2-diphényl-1-picryl-hydrazyl)

IV.5. 1. Principe

La réduction du radical libre DPPH (2,2'-diphényle-1-picryl hydrazyl) par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV-Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants [33]

En présence des piègeurs de radicaux libres, le DPPH. (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) de couleur violette se réduit en 2.2 Diphenyl 1 picryl hydrazine de couleur jaune.

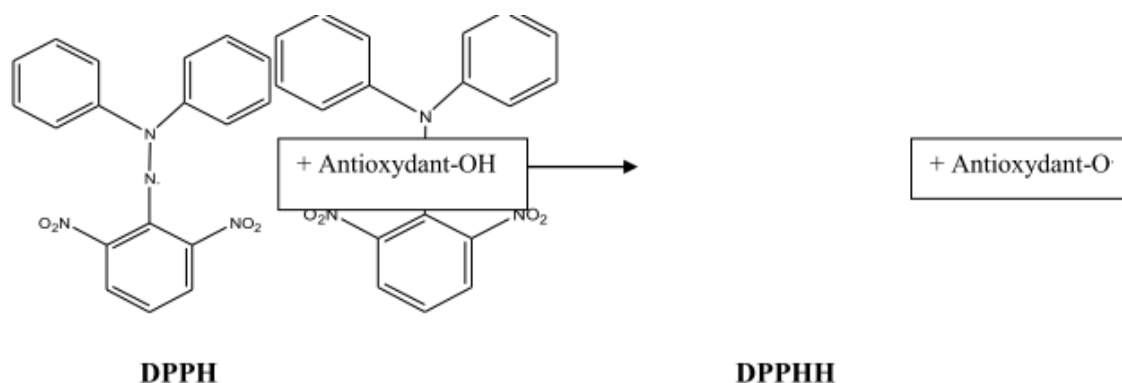


Figure 13: Mécanisme réactionnel de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl)

II.5.2. Mode opératoire

1ml de solution méthanolique de DPPH ($125\mu\text{M}$) a été mélangé avec 1 ml de chaque extrait. La préparation a été mélangée à l'aide d'un vortex et laissée pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. La diminution de l'absorbance du milieu réactionnel a été mesurée à 517 nm. La capacité antioxydante a été exprimée en mg d'équivalents d'acide ascorbique

(vitamine C) par g matière sèche (CAEAA). L'expérience a été répétée 3 fois pour calculer la moyenne. Le calcul de CAEAA a été réalisé en utilisant l'équation suivante :

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

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) ;

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 (10ml) ;

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

IV.6. Conception expérimental

Les plans d'expérience permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent des recherches scientifiques ou des études industrielles, et d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences. Box-Behnken Design (BBD) est un modèle du seconde degré a plusieurs variables. Il est facile à mettre en œuvre et possède la propriété deséquentialité. On peut entreprendre l'étude des *k* premiers facteurs en se réservant la possibilité d'en ajouter de nouveaux sans perdre les résultats des essais déjà effectués [34]. Ses principales caractéristiques sont [34]:

- Nécessite un nombre d'expérience $N = 2k(k-1) + C_p \dots (1)$, ou *k* est le nombre de facteur et *C_p* est le nombre de point centraux.
- Tous les niveaux de facteurs doivent être seulement à trois niveaux (-1, 0, +1) avec des intervalles réguliers.

Dans le cadre de notre étude, nous nous sommes appliqués à la réalisation d'un plan de Box-Behnken de trois niveaux pour évaluer l'effet combiné de quatre variables indépendantes : le temps, le volume et la masse. L'étude préliminaire qu'on a effectuée, nous a permis de déterminer les niveaux bas et hauts pour les variables influençant sur les expérimentations qui sont illustrées dans le tableau 5.

IV.6.1. Matrice d'expériences

Le modelé expérimental est basé sur le plan Box-Behnken pour 3 facteurs temps (*X*₁), le volume de solvant (*X*₂) et la masse (*X*₃) et à trois niveaux (-1, 0 et 1) dont les résultats permettent de construire une surface de réponse. Le plan expérimental est constitué de 45

essais répartis en 15 points factoriels dont 3 répétitions au centre afin de déterminer l'erreur pure (tableau 6).

Sur la base des données expérimentales, un modèle polynomial de second ordre correspondant au modèle Box-Behnken a été appliqué pour corréler la relation entre les variables indépendantes et la réponse pour prédire les conditions optimisées. Le modèle quadratique a été construit selon l'équation suivante [34]:

$$Y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2$$

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.

V6.2. Analyse de la variance

L'analyse de la variance est une technique statistique permettant de savoir si une ou plusieurs variables dépendantes (variables à expliquer) sont en relation avec une ou plusieurs variables dites indépendantes (variables explicatives). La forme générale de l'analyse de variance repose sur le test de Fisher et donc sur la normalité des distributions et l'indépendance des échantillons.

La première étape de l'analyse de la variance consiste à expliquer la variance totale sur l'ensemble des échantillons en fonction de la variance due aux facteurs (la variance expliquée par le modèle) et de la variance résiduelle (la variance non expliquée par le modèle). Le modèle sera explicatif si la valeur de p-value est inférieure au seuil de risque 5%.

La deuxième décomposition de la variance en deux source d'erreur permet de calculer Le « Manque d'ajustement » ou « lack of fit » (en anglais) qui mesure la différence qui existe entre le modèle a priori (modèle postulé) qui a été choisi par l'expérimentateur et le modèle réel qui régit le phénomène étudié. Le modèle sera statistiquement accepter (pas de manque d'ajustement) si la valeur de p-value est supérieure au seuil de risque 5% [35]

Pour réaliser la table de l'ANOVA (voir Tableau 7) il faut :

- ✓ Déterminer les sources de variation
 - Calculer les degrés de liberté (ddl) de chaque source
 - Calculer les sommes des carrées des écarts (SCE) de chaque source
 - Calculer les carrés moyens (CM) de chaque source

Tableau 7 : Exemple de la table d’analyse de la variance

Source de la variance	Sommes des carrés des écarts	Degrés de liberté	Carré moyen	F	p-value
modèle	$SCE_{facteur}$	$DDL_{facteur}$	$S^2_{facteur} = \frac{SCE_{facteur}}{DDL_{facteur}}$	$F = \frac{S^2_{facteur}}{S^2_{résidu}}$	$P(F > F_{OBS})$
Résiduelle	$SCE_{résidu}$	$DDL_{résidu}$	$S^2_{résidu} = \frac{SCE_{résidu}}{DDL_{résidu}}$		
Totale	SCE_{total}	DDL_{total}			

IV.6.3. Coefficient de détermination (R^2)

L’analyse de la variance permet de calculer aussi une statistique très utile nommé coefficient de détermination: R^2

Si le modèle permet de retrouver exactement la valeur des réponses mesurées, la somme des carrés des réponses calculées est égale à la somme des carrés des réponses mesurées. Le R^2 est égal à 1.

Si le modèle fournit des réponses calculées égales à la moyenne, la somme des carrés des réponses calculées est égale à 0. Le R^2 est égal à 0. On dit que le modèle n’a pas de puissance d’explication.

Le R^2 est donc une mesure de la qualité du modèle. S’il est égal à 1, le modèle permet de retrouver la valeur des réponses mesurées. S’il est égal à 0, le modèle n’en dit pas plus que la moyenne des réponses.

IV.7. Analyse statistique

Les résultats expérimentaux de l’analyse préliminaire à un seul facteur ont été évalués par le logiciel Excel 2013. Toutes les données ont été répétées trois fois afin de calculer la moyenne. Le logiciel Matlab (Version 10. SAS, USA) a été utilisé pour déterminer les coefficients des polynômes pour chaque réponse. L’analyse de variance (ANOVA) a été utilisée pour la vérification de la signification des coefficients du modèle ($p < 0,05$). Le test F et la valeur-p ont

été utilisés pour vérifier l'importance du coefficient de régression. L'adéquation du modèle a été déterminée en évaluant le manque d'ajustement.

V. Résultats et discussion

V.1. Extraction des composés phénoliques par ultrason

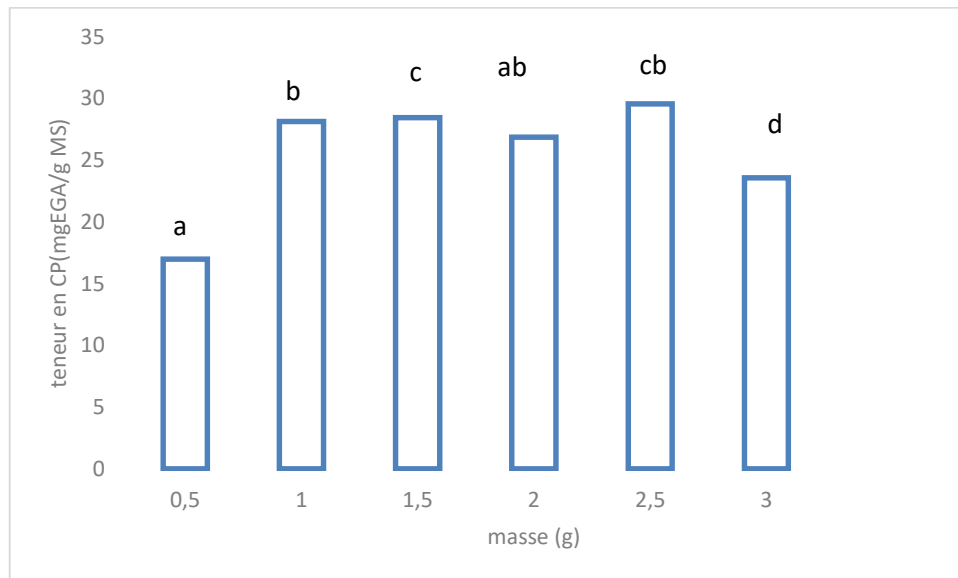


Figure 14 : Effet de différentes masses sur CPT. *Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

L'influence de la masse de la matière végétale sur le rendement en composés phénoliques totaux des extrais étudiés est illustrée dans la figure 15. L'effet de la masse sur l'extraction des CPT du *R. dpressuma* été évalué à l'aide de six rapports (0.5:20, 1:20, 1.5:20, 2:20, 2.5:20, et 3:20 g/ml) sur une période d'extraction de 15 min, (figure 15). L'analyse statistique révèle une différence significative à $p < 0,05$ entre les différentes masses. La masse de 2.5 g de la matière végétale a donné un meilleur rendement en CPT avec un taux de 28 ± 3 mg EAG/g de MS, suivie par 1.5 g avec une teneur de 25 ± 4 mg EAG/g MS, alors que 0.5 g a donné le taux le plus bas de 17 ± 2 mg EAG/g de MS. De 2,5 à 3 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 de la masse d'extraction de 3 g est accompagnée d'une diminution en CPT (22 ± 5 mg EAG /g MS). D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'intervalle optimal concernant la masse est défini entre 1-2g

V.1.2. L'Effet de volume de solvant

Le volume de solvant, est un facteur influençant sur l'extraction de polyphénols, c'est pour ça on a procédé à différentes extractions avec différents volumes de solvant. La figure 16 montre les résultats de ces essais.

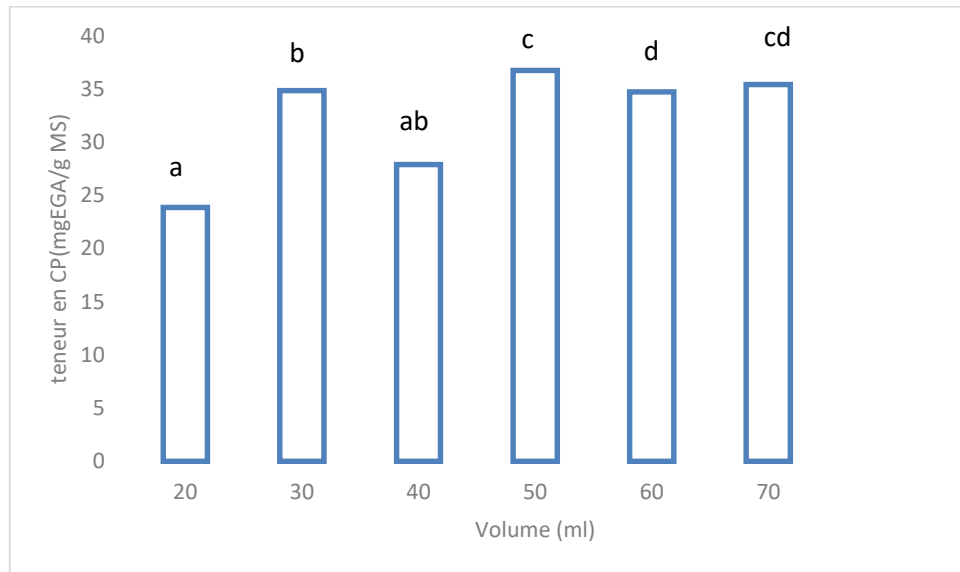


Figure 15 : Effet volume sur l'extraction des CPT. *Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$).

L'effet de solvant sur l'extraction des CPT du *Rhanteriumadpressum* a été évalué dans un intervalle (20-70 ml) avec un temps d'extraction de 15 min, (figure 16). Les résultats décrits ci-dessus révèlent une influence significative du volume méthanol sur les CPT. Les résultats de l'étude statistique montrent une différence significative entre les teneurs extraites par ces ratios qui varie de $22,85 \pm 4$ à $36,75 \pm 7$ mg EAG/g de MS. En augmentant le volume de méthanol de 40 à 50, on obtient un meilleur rendement d'extraction qui passe de $27,85 \pm 9$ mg EAG/g de poudre à $36,75 \pm 12$ mg EAG/g de poudre respectivement, au de la de ce volume les taux en composés phénoliques diminues. Suite aux résultats obtenues, le volume de solvant 40-60 ml a été considéré comme intervalle optimal, tandis que le volume 50 ml a été utilisée pour les prochains essais à un seul facteur.

V.1.3. L'effet de différents temps d'extraction

Les résultats de l'effet du temps sur l'extraction des composés phénoliques des extraits *Rhanteriumadpressum* sont présentés dans la figure 17

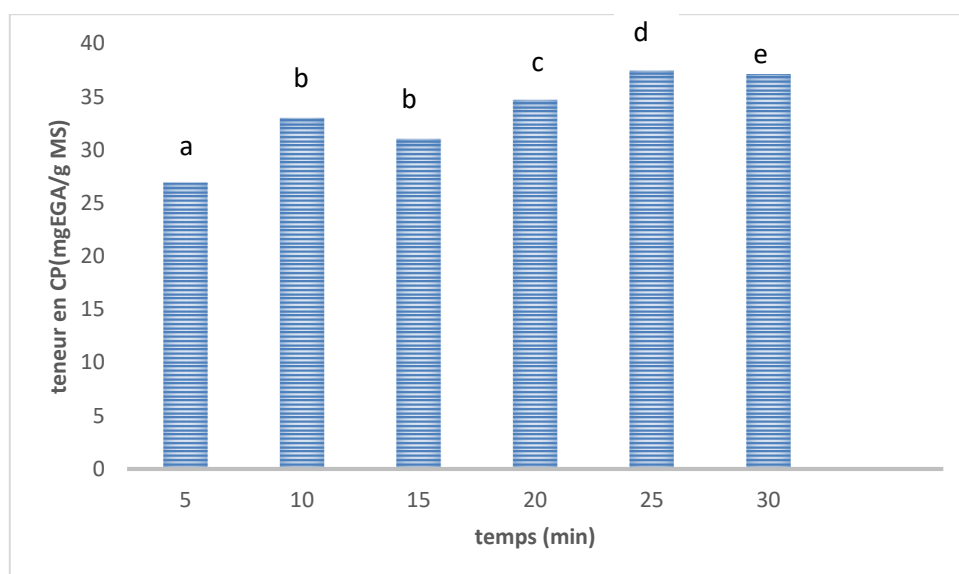


Figure 16: Effet de différents temps d'extraction sur les CPT. *Les mêmes lettres indiquent que la différence n'est pas significative ($p < 0,05$)

Le temps d'extraction est un autre paramètre principal du procédé d'extraction. Les résultats obtenus indiquent que plus le temps d'extraction est long, meilleur est le taux des composés phénoliques avec une valeur maximal de $37,43 \pm 12$ mg EAG /g de poudre à 25 min. De 25 min à 30 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. Une augmentation du temps d'extraction de 30 min est accompagnée d'une diminution en composés phénoliques (35 ± 5 mg EAG /g MS). De ce fait, comme l'expliquent les travaux de Santos-Buelga et al., (2012); un temps de contact prolongé n'améliore pas toujours l'efficacité de l'extraction, en effet, il peut également favoriser l'oxydation des composés phénoliques. D'après les résultats obtenus, il apparaît que l'intervalle optimal concernant le temps d'extraction est défini entre 20-30 min.

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

Trois facteurs, qui sont la masse (X_1), le volume d'extraction (X_2) et le temps d'extraction (X_3), ont été utilisé afin d'optimiser l'extraction par macération des polyphénols totaux du *R. adpressum*.

Selon l'analyse présentée ci-dessus, il peut être déduit que toutes les variables mentionnées affectent l'efficacité et le rendement de l'extraction. Bien que ces effets aient été traités séparément, il convient de noter que, dans le système, elles interagissent. Le produit de l'interaction de ces variables se reflète dans le contenu phénolique des extraits obtenus.

Les principaux facteurs à prendre en compte durant l'optimisation sont présentés avec les conditions optimales respectives déterminées en fonction de l'étude réalisée.

Les trois facteurs (X_1 , X_2 , et X_3) à trois niveaux (-1, 0 et +1) ont été appliqués pour optimiser l'extraction des composés sont consigné dans le tableau 6:

Tableau 6: Les domaines expérimentaux des facteurs étudiés dans l'optimisation des composés phénoliques du *Rhanteriuma dpressum*.

Variables		Niveaux		
		-1	0	1
Masse (g)	X_1	1	1.5	2
Volume de solvant (ml)	X_2	40	50	60
Temps (min)	X_3	20	25	30

V.2.1. Plan d'expérience Box-Behnken

L'optimisation des conditions d'extraction par ultrason a été rapporté dans plusieurs études [36]. En général, l'efficacité d'extraction d'un composé est influencée par plusieurs paramètres comme la masse, le temp d'irradiation et le volume du solvant. Leur effets peuvent etre indépendants ou interactifs.

Basées sur les observations des études préliminaires, les gammes de chaque variable indépendant influençant le CPT ont été choisies. 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 polyphénols totaux varie de 28,50 à 62,38mg EAG/g de matière sèche, impliquant que les facteurs (volume du solvant, masse d'extraction et temps d'extraction) ont une influence significative sur le rendement d'extraction de ces composés phénoliques.

Tableau 8: la 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 (g)	X_2 (ml)	X_3 (min)	CPT (m/g)	FVT (m/g)	DPPH (IAq)
1	0	0	0	60,79	3,13	37,19
2	-1	0	1	61,28	2,55	38,11
3	1	-1	0	62,38	3,19	39,00
4	0	-1	-1	46,11	2,96	40
5	-1	-1	0	38,65	2,02	38,59
6	1	0	1	50,76	4,29	39,48
7	0	1	-1	46,36	3,85	35,58
8	0	0	0	57,49	2,95	36,52
9	1	1	0	49,41	2,73	28,82
10	1	0	-1	44,03	2,45	37,02
11	-1	1	0	28,50	1,82	40,68
12	0	-1	1	49,05	4,42	33,23
13	-1	0	-1	33,39	3,07	33,09
14	0	1	1	43,30	3,88	40,68
15	0	0	0	44,28	3,46	39,38

V.2.2. Validation du modèle

Dans les plans d'expériences, le modèle mathématique relie la réponse aux facteurs qui l'influence, et afin d'avoir une bonne réponse plusieurs conditions doivent être vérifiées.

V.2.3. Le coefficient de détermination (R^2)

Dans la présente étude, le coefficient de détermination (R^2) du model est égale à 0,94 (tableau 9), ce qui signifie qu'uniquement 16% des variations ne sont pas expliquées par le model. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajustée est de l'ordre de (R^2 ajusté =0.90), ce qui est assez élevé pour confirmer la haute significativité du model, sachant que le R^2 représente la valeur du coefficient de détermination (R^2) après élimination des termes (coefficient) inutiles du model. Un modèle contenant beaucoup de termes inutiles (non significatifs) auront une valeur de R^2 ajusté très inférieur à celle du R^2 [37].

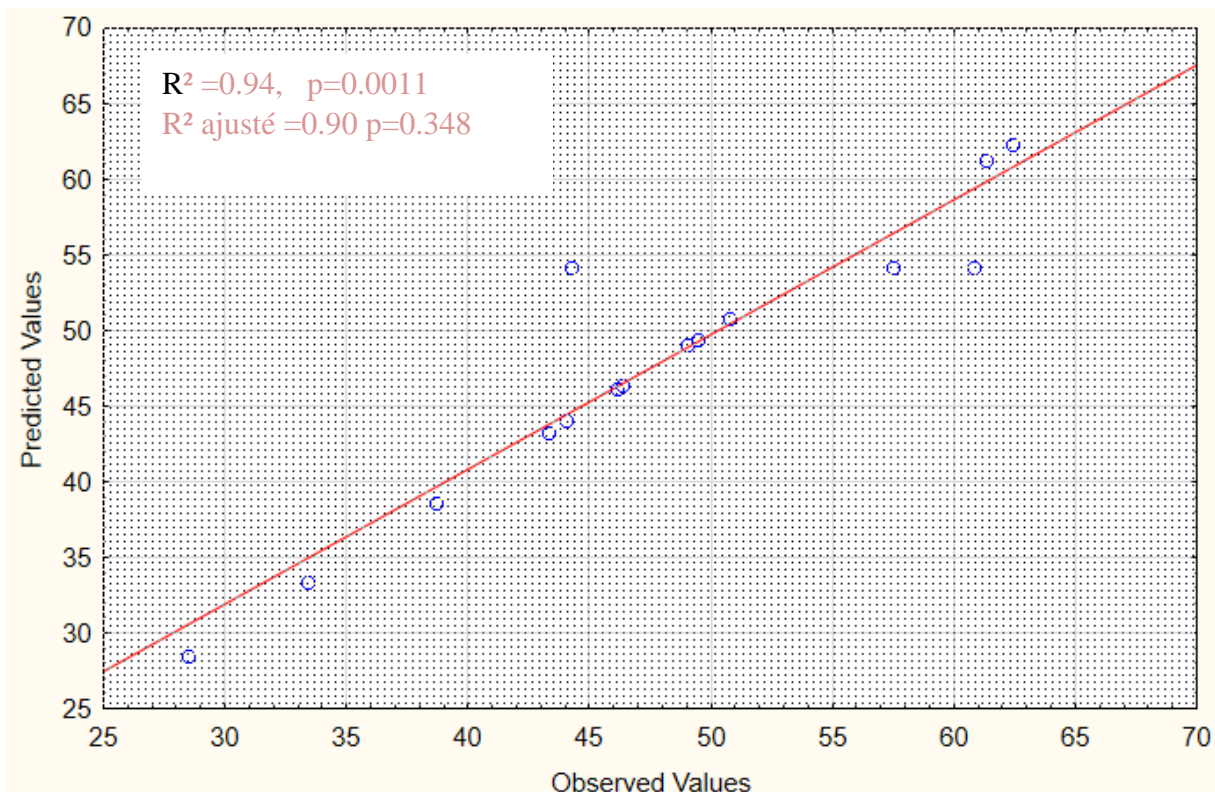


Figure 17: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

V.2.3. Model global et manque d'ajustement

L'analyse de la variance de la régression du model (Tableau 9), montre que le model est très significatif ($p < 0,005$), et que le défaut d'ajustement n'est pas significatif ($p > 0,05$) par rapport à l'erreur pure, ce qui confirme la validation du modèle ($p > 0,05$) par rapport à l'erreur pure, ce qui confirme la validation du modèle.

Tableau 9: L'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}	0.94	0.90	108.45	<0.0001*	0.90	0.72
Y _{Flavonoïde}	0.98	0.92	438.40	0.0001*	44.54	0.678
Y _{DPPH}	0.97	0.80	67.89	0.023*	12.56	0.134

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

V.2.4. Effet des facteurs (coefficients)

L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à analyser l'impact des variables (X₁, X₂ et X₃) à p<0.05, afin de déterminer le degré d'influence des facteurs (temps, volume et masse) sur l'extraction des CPT [38]. Les p-value sont utilisés comme un moyen pour vérifier la signification de chaque coefficient, ce qui indique aussi l'intensité d'interaction de chaque paramètre. Les plus petits p-value présentent la plus grande signification du facteur correspondant [39]. Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau 10

Tableau 10 : Coefficients de régression et leurs significations statistiques.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
CPT				
constant				
<i>b</i> ₀	46,10	2,52	18,27	< 0.00298*
linéaire				
<i>b</i> ₁	18,90	6,51	2,28	0.0149
<i>b</i> ₂	-8,62	6,51	-1.32	0.041
<i>b</i> ₃	11,51	6,51	1,76	0,218
interaction				
<i>b</i> ₁₂	-1,40	8,73	-0,16	0.0088*
<i>b</i> ₁₃	-10,58	8,73	-1.21	0.034*
<i>b</i> ₂₃	-2,99	8,73	-0.35	0.764
Quadratique				

b_{11}	4,14	1,54	0,91	0.0458*
b_{22}	5,30	1,54	1,16	0.036*
b_{33}	2,67	1,54	0,58	0,0618

Significatif avec $p < 0.05$.

V.2.3. Modèle mathématique

Dans l'absolu, le choix d'un plan d'expérience n'a pas de sens tant qu'il n'est pas subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Les modèles les plus classiques sont les modèles polynomiaux (le plus souvent de degré inférieur ou égale à deux) [39]. D'après les résultats de l'étude, les valeurs des coefficients significatifs et la fonction qui régit l'extraction des CPT à partir de *R. dpressum* sont alors bien connues. Le modèle mathématique du BBD de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$\text{CPT} = 46,10 + 18,90 X_1 - 8,62 X_2 + 11,56 X_3 - 1,40 X_1 X_2 - 10,58 X_1 X_3 - 2,99 X_2 X_3 + 4,14 X_1^2 + 5,30 X_2^2 + 2,67 X_3^2$$

V.2.6. Effet linéaire

Les résultats de la présente étude, montre que le facteur qui possède une influence hautement significative sur l'extraction des CPT de la matière sèche du *R. dpressum* est la masse d'extraction (X_1) et le volume (X_2) avec une probabilité de $p = 0.0149$; et 0.041 respectivement, cependant l'impact est non significatif pour le facteur (X_3) à savoir le temps d'extraction.

V.2.7. Effet quadratique

L'effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur de volume ($X_2 X_2$) avec $p = 0,036$, il est suivi par l'effet quadratique de masse d'extraction ($X_1 X_1$) avec $p = 0,0458$, contrairement à l'effet quadratique de le temps ($X_3 X_3$) qui est non significatif avec $p = 0,0618$.

III.2.8. Analyse des surfaces de réponse

III.2.8.1. masse -volume

Le couple masse-volume ($X_1 X_2$) influence d'une manière insignifiante sur l'extraction des CPT avec $p = 0,0088$. Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre la masse d'extraction, le volume et le taux d'extraction des CPT sont représentés dans la figure 19. Une diminution de la teneur en composés phénoliques a été observée avec l'augmentation volume d'extraction de 50-60 ml et la masse de la matière sèche de 1,5-2g, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, à un volume de 40-50 ml de masse du 1-1,5g. Ces résultats sont compatibles 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 devient importante lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé [40].

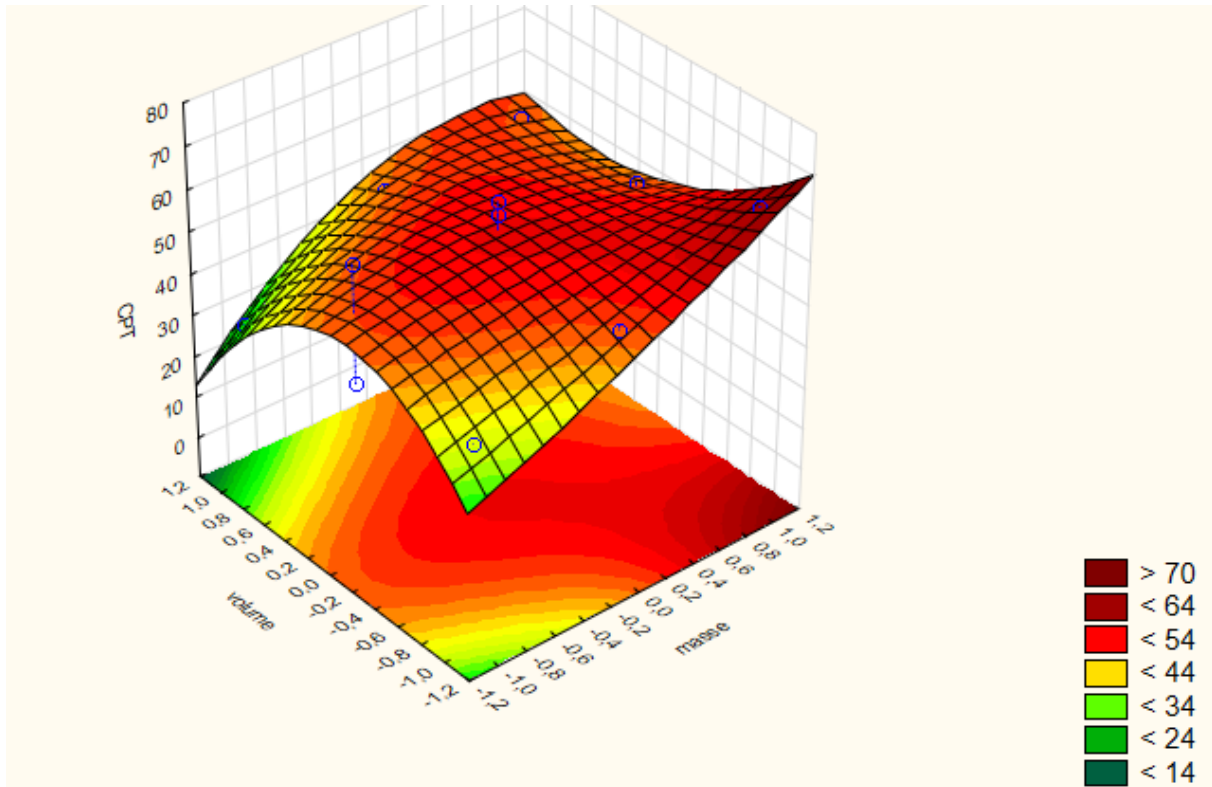


Figure 18: Surface de réponse pour les effets volume/masse sur le rendement des composés phénolique du *R. dpressum*

V.2.8.1. Temps- masse

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, le volume (X_1X_3) et le taux d'extraction des CPT sont représentés dans la figure 20. Les résultats obtenus montrent que le couple temps d'extraction et la masse (X_1X_3) présente un effet significatif avec $p=0,034$. Une diminution de la teneur en composés phénoliques a été observée avec l'augmentation du la masse d'extraction de 1,5-2 g et le temps d'extraction 25-30 min, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, à un temps de 20-25 min et la masse du 1-1,5 g une augmentation remarquable de la quantité de composé extrait est constatée 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 [40].

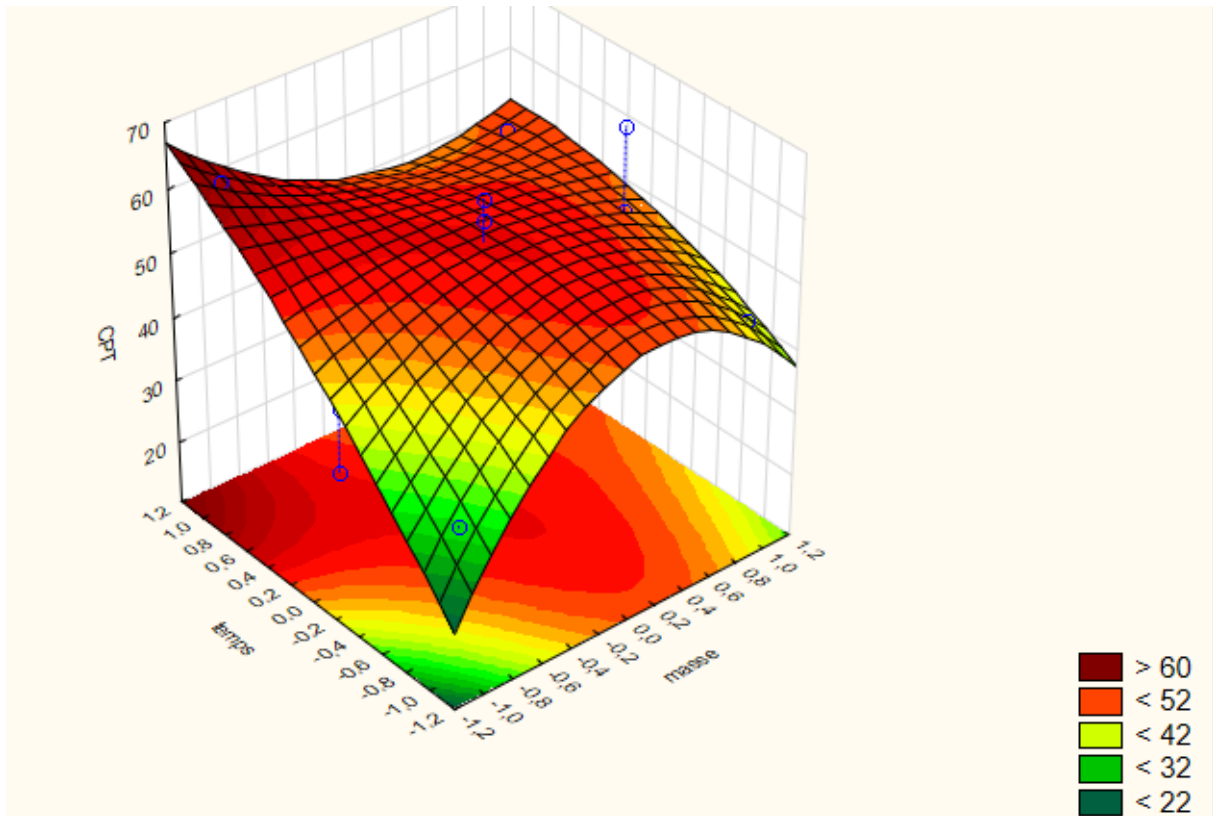


Figure 19: Surface de réponse pour les effets temps/masse sur le rendement des composés phénolique du *R. dpressum*

III.2.8.2 Temps -volume

Le couple temps-volume (X_3X_2) influence d'une manière insignifiante sur l'extraction des CPT avec $p=0,764$. 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 21. Les résultats montrent que la teneur en composés phénoliques diminue lorsque le temps varie de 25 à 30 min et le volume de 50 à 60 g/ml. Si on augmente le temps de 20 à 25 min et on fixe le volume à 50 ml simultanément, la teneur en composé phénoliques augmente de 39 à 50 mg EAG /g.

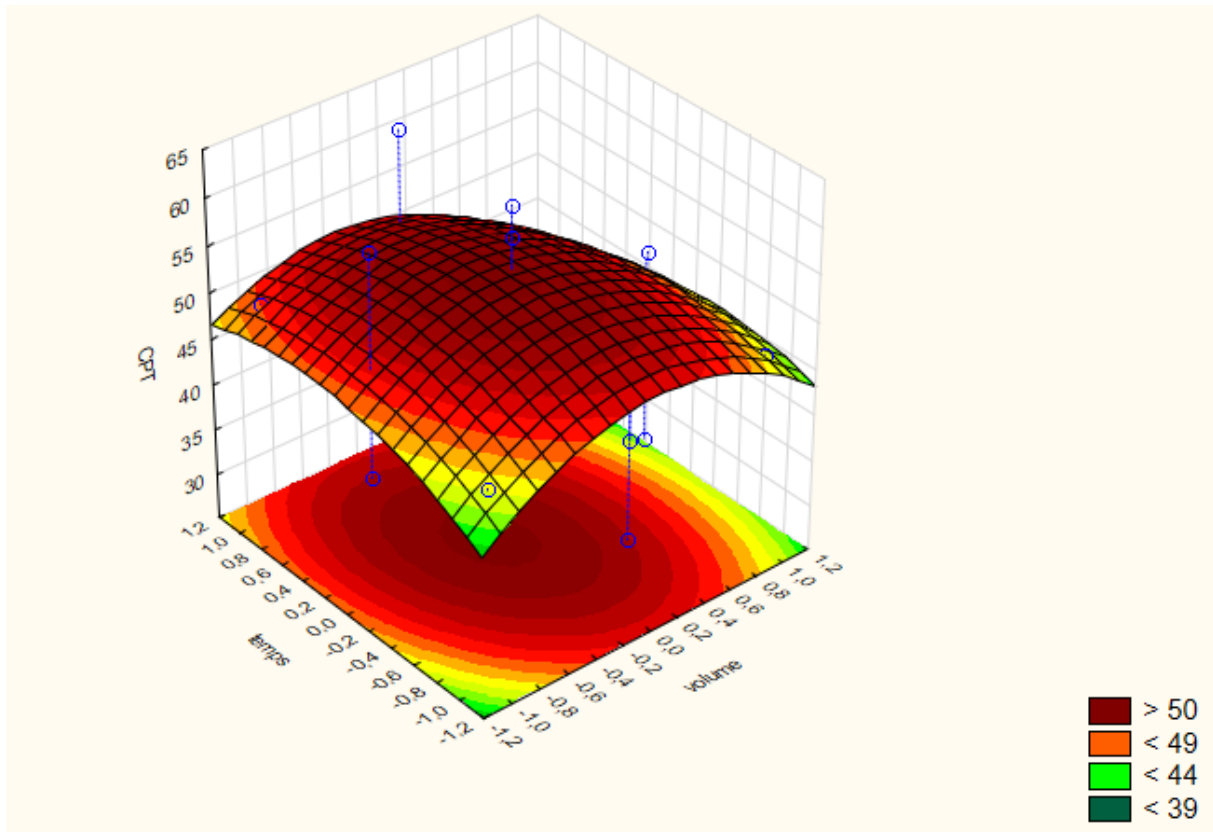


Figure 20:Surface de réponse pour les effets temps/volume sur le rendement des composés phénolique du *R. dpressum*

III.3.4.3. Conditions optimales

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux complets peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparait que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation de l'extraction des composés phénoliques sont obtenues au niveau du domaine expérimental dans le tableau suivant

Tableau 11 : Conditions optimales d'extraction des composés phénoliques par ultrason (mg EAG /g

Temps d'extraction (min)	Volume (ml)	Masse (g)	Valeur prédite (mg EAG/g MS)
23	42	1.75	74,89

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

V.3.1. Courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoides

Le composé de référence utilisé pour l'établissement de cette courbe est la quercétine. La courbe est établie avec un coefficient de corrélation $R^2 = 0,91$ (Annexe1). 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 1,82 à 4,42mg EQ/g de MS (Tableau 8). Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (temps, volume et masse) sur le taux des flavonoides.

V.3.2. Coefficient de corrélation

L'analyse statistique a montré que le coefficient de corrélation R^2 et celui d'ajustement sont de 0,98 et 0.93 respectivement qui sont proches de 1 et un manque d'ajustement du model qui est insignificative à $p < 0,05$, indiquant que le modèle pourrait être utilisé pour prédire les résultats obtenus en terme de flavonoidiques par cette technique d'extraction assistée par ultrason (Tableau 12).

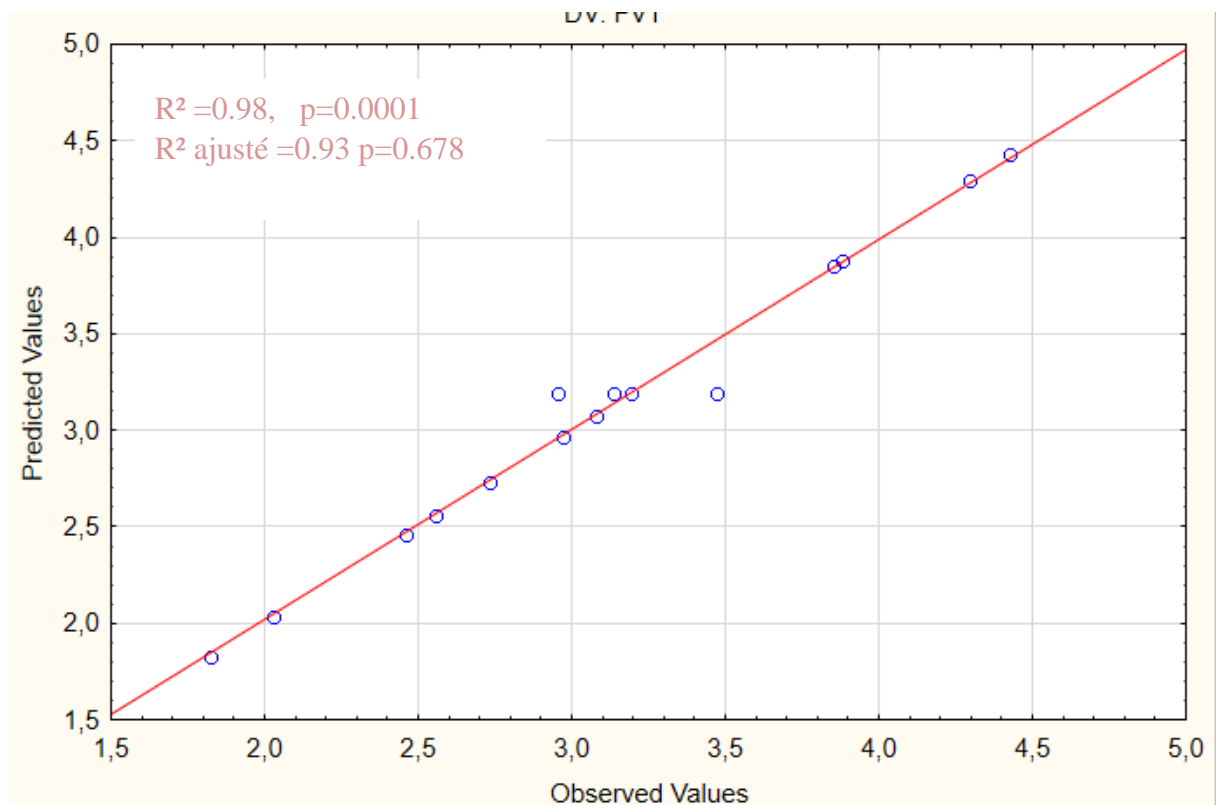


Figure 21: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

V.3.3. Effet des facteurs (coefficients)

Les résultats du calcul des coefficients de régression estimés du model polynomial sont représentés dans le tableau12.

Tableau12 : Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
FVT				
constante				
<i>b</i> ₀	3.10	0.075	41,30	< 0.0005*
linéaire				
<i>b</i> ₁	0.877	0.194	4,51	0,0457*
<i>b</i> ₂	-0.165	0.194	-0.854	0.0298*
<i>b</i> ₃	0. 686	0.194	3,530	0.0716
interaction				
<i>b</i> ₁₂	-0.129	0.260	-0.497	0.044*
<i>b</i> ₁₃	1,17	0.260	4.51	0.0454*
<i>b</i> ₂₃	-0.715	0.260	-2,74	0.111
Quadratique				
<i>b</i> ₁₁	0.712	0.136	5.25	0.0457*
<i>b</i> ₂₂	0,028	0.136	0,210	<0.048*
<i>b</i> ₃₃	-0.622	0.136	-4.59	0,0541

Significatif avec p<0.05.

V.3.4. Analyse du modèle mathématique

D’après les résultats de l’étude, les valeurs des coefficients significatifs et la fonction qui régit l’extraction des composés flavonoidiques à partir du *R. dpressum* sont alors bien connues. Le modèle mathématique du BBD de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$\text{FVT} = 3.10 + 0.877 X_1 - 0.165 X_2 + 0.686 X_3 - 0.129 X_1 X_2 + 1.17 X_1 X_3 - 0.715 X_2 X_3 + 0.712 X_1^2 + 0.028 X_2^2 - 0.622 X_3^2$$

V.3.4.1. Effet linéaire

D'après les résultats de la présente étude, il existe deux facteurs qui possèdent une influence significative positive sur l'extraction des composés flavonoidiques du *R.dpressum* qui sont : le volume d'extraction (X_2) avec un $p=0,0298$ suivit par la masse qui a un $p=0,457$

III.3.4.2. Effet quadratique

L'effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur de volume (X_2X_2) avec $p=0,048$, il est suivi par l'effet quadratique du masse d'extraction (X_1X_1) avec $p=0,0457$, contrairement à l'effet quadratique du temps (X_3X_3) qui est non significatif avec $p=0,541$

V.3.4.2.1. Analyse des surfaces de réponse

V.3.4.2.2. Volume-masse

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le volume, la masse de matière sèche et le taux d'extraction des composés flavonoidiques sont représentés dans la figure 23. Les résultats obtenus montrent que le couple la masse et le volume (X_2X_1) présente un effet non significatif avec $p=0,0444$. Une augmentation de la teneur en composés flavonoidiques a été observée avec l'augmentation le volume de 40-50 ml et la masse de matière sèche environ de 1-1,5 g. La stabilité de la teneur en CFVT a été observée dans tout le domaine de la variation du facteur volume, lorsqu'il atteint une certaine valeur (volume de 50-60 ml). Ces résultats sont compatibles 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 devient importante lorsque le rapport solide/liquide utilisé est plus élevé [41].

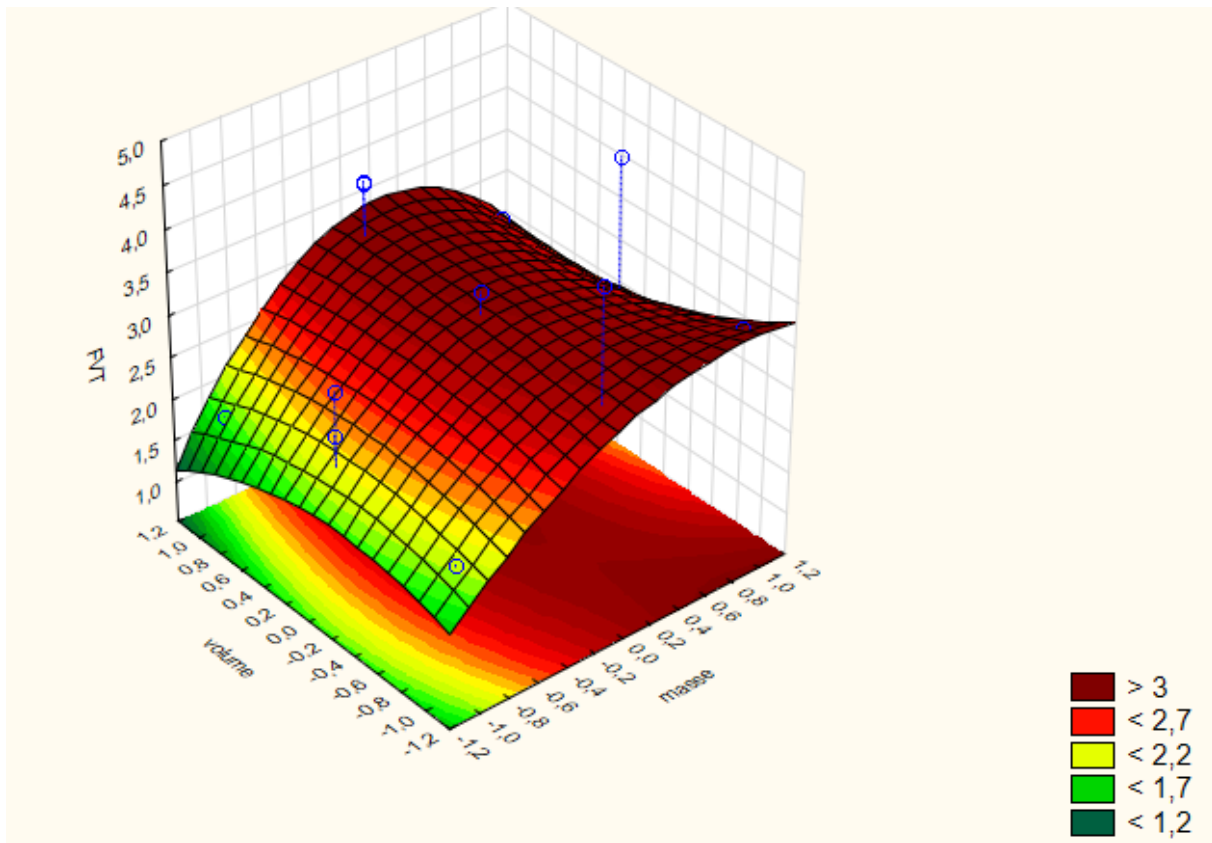


Figure 22: Surface de réponse pour les effets volume/masse sur le rendement des composés flavonoidiques du *R. adpressum*

V.3.4.2.3. Temps –masse

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, la masse et le taux d'extraction des composés flavonoidiques sont représentés dans la figure 24. Les résultats obtenus montrent que le temps d'extraction, et la masse (X_1X_3) présente un effet significatif avec $P=0,0457$. Une augmentation de la teneur en composés flavonoidiques a été observée avec l'augmentation de temps d'extraction de 20-25 min et la masse de 1-1,5 g, mais la tendance a été renversée lorsque le rapport a atteint une certaine valeur. En effet, à un temps de 25-30 min et une masse de 1,5-2 g une diminution remarquable 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.

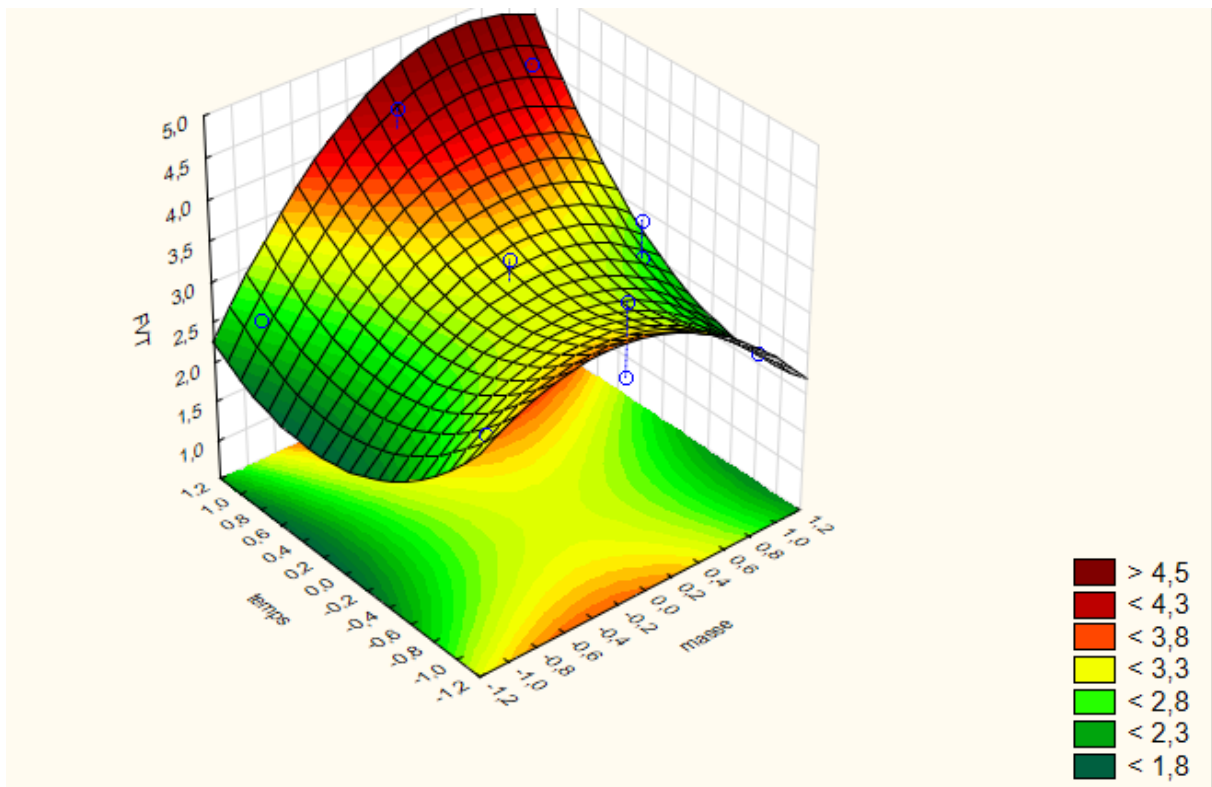


Figure 23:Surface de réponse pour les effets temps/masse sur le rendement des composés flavonoidiques du *R. dpressum*

V.3.4.2.4. Temps -volume

Le temps d'extraction-volume de solvant (X_3X_2) influence d'une manière insignifiante sur l'extraction des composés flavonoidiques avec $p=0,111$. Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'extraction, le volume d'extraction et le taux d'extraction des composés flavonoidiques sont représentés dans la figure 25. Une augmentation de la teneur en composés flavonoidiques a été observée avec l'augmentation de temps d'extraction 20-30 min et le volume environ de 40-60 ml. Cela peut s'expliquer par les effets multiplicateurs du traitement préalable et le potentiel en composés extractibles élevés. En pénétrant plus profondément dans la matrice solide, le solvant peut entrer au contact avec une quantité plus grande de soluté, favorisant ainsi la libération des composés flavonoidiques. Le grand pouvoir d'imprégnation qui augmente considérablement la solubilité et le coefficient de diffusion des composés à extraire, faisant diminuer la résistance liée au transfert de matière interne.

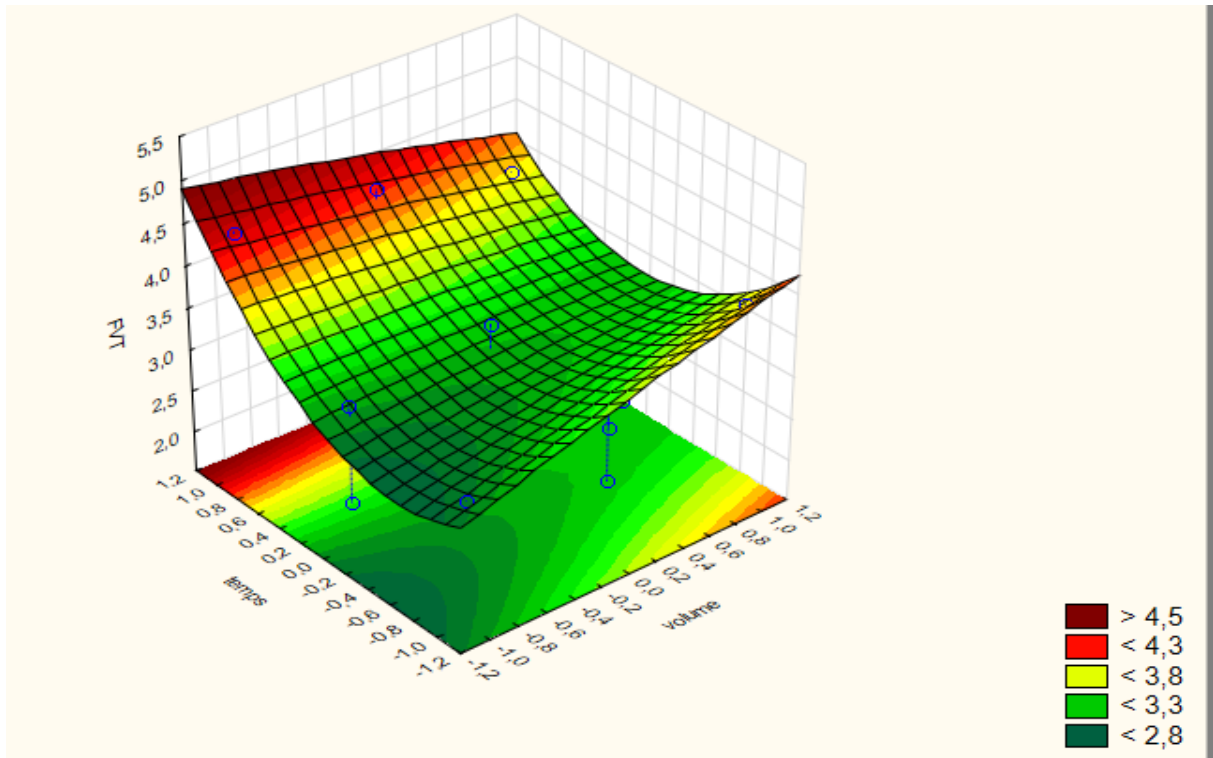


Figure 24: Surface de réponse pour les effets temps/volume sur le rendement des composés flavonoidiques du *R. dpressum*

V.3.4.3. Conditions optimales

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux complets peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparait que les conditions expérimentales optimales, c'est-à-dire celles conduisant à une maximisation de l'extraction des composés flavonoidiques sont obtenues au niveau du domaine expérimental dans le tableau suivant

Tableau 13 : Conditions optimales d'extraction des composés flavonoidiques par ultrason (mg EAG/g MS).

Temps d'extraction (min)	Volume (ml)	Masse (g)	Valeur prédite (mg EQ/g MS)
28	55	1.80	08.67

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

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

Le DPPH(2,2-Di-Phényl-1-Picryl-Hydrazyl) est caractérisé par une couleur violette. En présence d'un donneur d'hydrogène, le DPPH est réduit en sa forme non radicalaire de couleur jaune pâle (forme d'hydrazine). Ce passage de la première forme à la deuxième, est accompagné d'une diminution de l'absorbance qui peut s'exprimer par le pourcentage de réduction du DPPH Rajopadhye et al[10]. Le suivi de la décoloration est réalisé par spectrophotométrie à 517 nm. L'acide ascorbique a été utilisé comme étalon à différentes concentrations (Annexe 1). 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 varient de 28,82 à 40,68 mg EAAC/g de MS (Tableau 8). Ceci confirme l'influence des paramètres étudiés (temps, volume et masse) sur l'activité anti-radicalaire.

V.4.2. Coefficient de corrélation

L'analyse statistique a montré que le coefficient de corrélation R^2 et celui d'ajustement sont de 0,97 et 0.80 respectivement qui sont proches de 1 et un manque d'ajustement du model qui est insignificative à $p < 0,05$, indiquant que le modèle pourrait être utilisé pour prédire les résultats obtenus en terme de l'activité antioxydante(tableau 14).

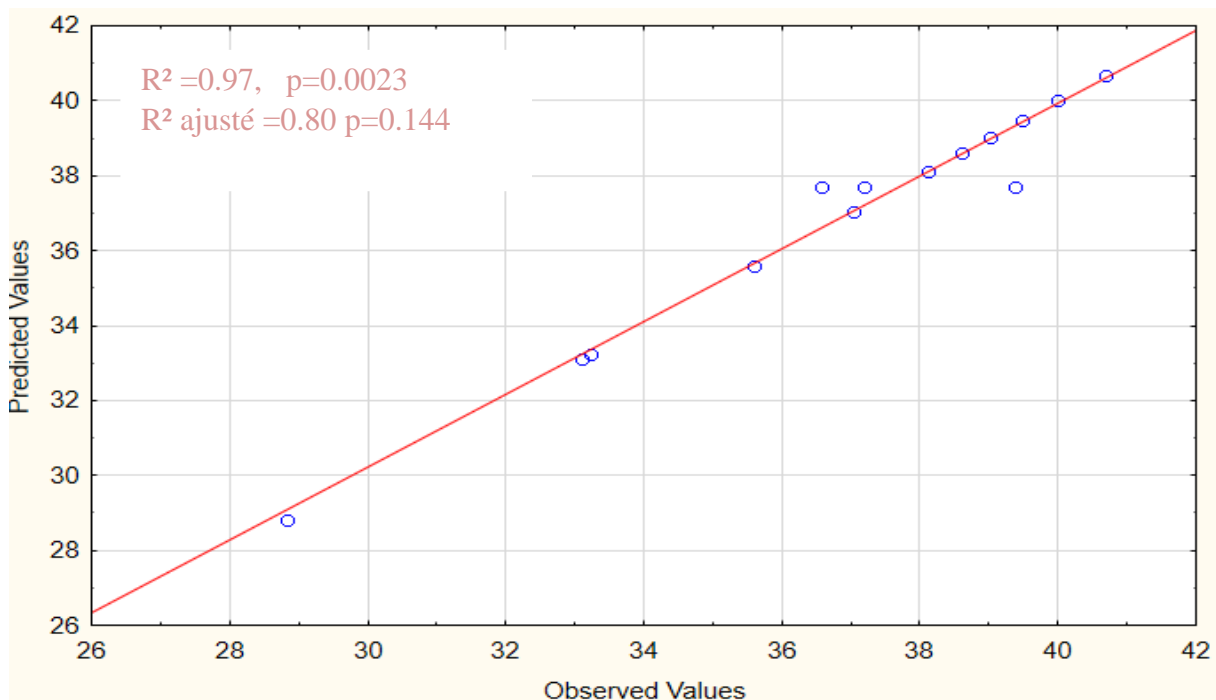


Figure 25: Graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues.

V.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 14: Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Terme	Coefficients	Erreur standard	Rapport t	Probabilité > t
constante				
b_0	37,02	0,452	87,05	< 0.000132*
linéaire				
b_1	-2,93	0,91	-2,67	0,0116*
b_2	-2,19	0,68	-1,98	0,0193
b_3	2,21	0,78	2,01	0,018*
interaction				
b_{12}	-6,78	1,47	-4.56	0,0483*
b_{13}	-1,28	0,37	0,47	0,0470
b_{23}	5,93	1.37	-1.23	0,0467
Quadratique				
b_{11}	0.69	0,32	0,90	0,0116
b_{22}	0,24	0,12	-1,99	0,0077*
b_{33}	0,095	0,001	0,91	0,0913*

Significatif avec $p < 0.05$.

V.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 échantillons du *R. dpressum* sont alors bien connues. Le modèle mathématique du BBD de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$DPPH = 37,02 - 2,93 X_1 - 2,19 X_2 + 2,21 X_3 - 6,78 X_1 X_2 - 1,28 X_1 X_3 + 5,93 X_2 X_3 + 0,69 X_1^2 + 0,24 X_2^2 + 0,095 X_3^2$$

V.4.3.1. Effet linéaire

D’après les résultats de la présente étude, il existe deux facteurs qui possèdent une influence significative négative sur l’activité antioxydante des échantillons du *R. dpressum* qui sont : la

masse (X_1) qui a un $P=0.0116$, temps d'extraction (X_3) avec un $p=0,0180$ suivit par le volume d'extraction qui a un $p=0,0193$.

V.4.3.2. Effet quadratique

L'effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur de masse d'extraction (X_1 X_1) avec $p=0,0116$, il est suivi par l'effet quadratique du volume d'extraction (X_2X_2) avec $p=0,077$, contrairement à l'effet quadratique de temps (X_3X_3) qui est non significatif avec $p=0,0913$.

V.4.3.3. Analyse des surfaces de réponse

V.4.3.3.1 Volume-masse

La figure 27 montre la surface de réponse qui présente l'effet de volume et la masse (X_1X_2) sur l'activité antioxydante. Les résultats obtenus indiquent que l'interaction volume-masse est significative avec la probabilité supérieure à 0,048. Une augmentation remarquable de l'activité antiradicalaire a été constatée lorsque la masse varie de 1 à 2 g et le volume de 40 à 60 ml. Ce résultat est en accord avec les observations de figure 20

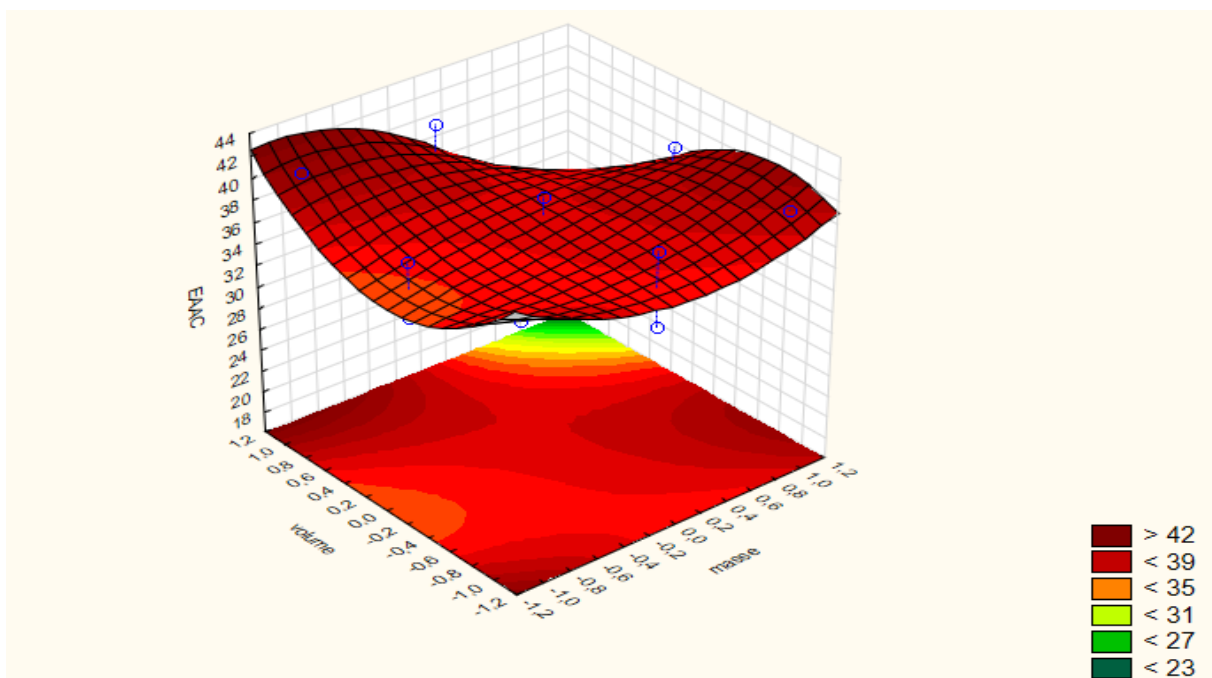


Figure 26: Surface de réponse pour les effets volume/masse sur l'activité antioxydante du *R. dpressum*

V.4.3.3.2. Temps –masse

La figure montre la surface de réponse qui présente l'effet de temps d'extraction et la masse sur l'activité scavenger DPPH. Les résultats obtenus montrent que le temps d'extraction, et la masse (X_1X_3) présente un effet insignifiant avec $p=0,0913$. Une diminution de l'activité

antioxydante a été observée avec l'augmentation de temps d'extraction de 25-30 min et la masse de 1,5-2 g. Ce qu'est compatible avec les résultats des figures de composés phénoliques (figure 20) et flavonoidiques (figure 24).

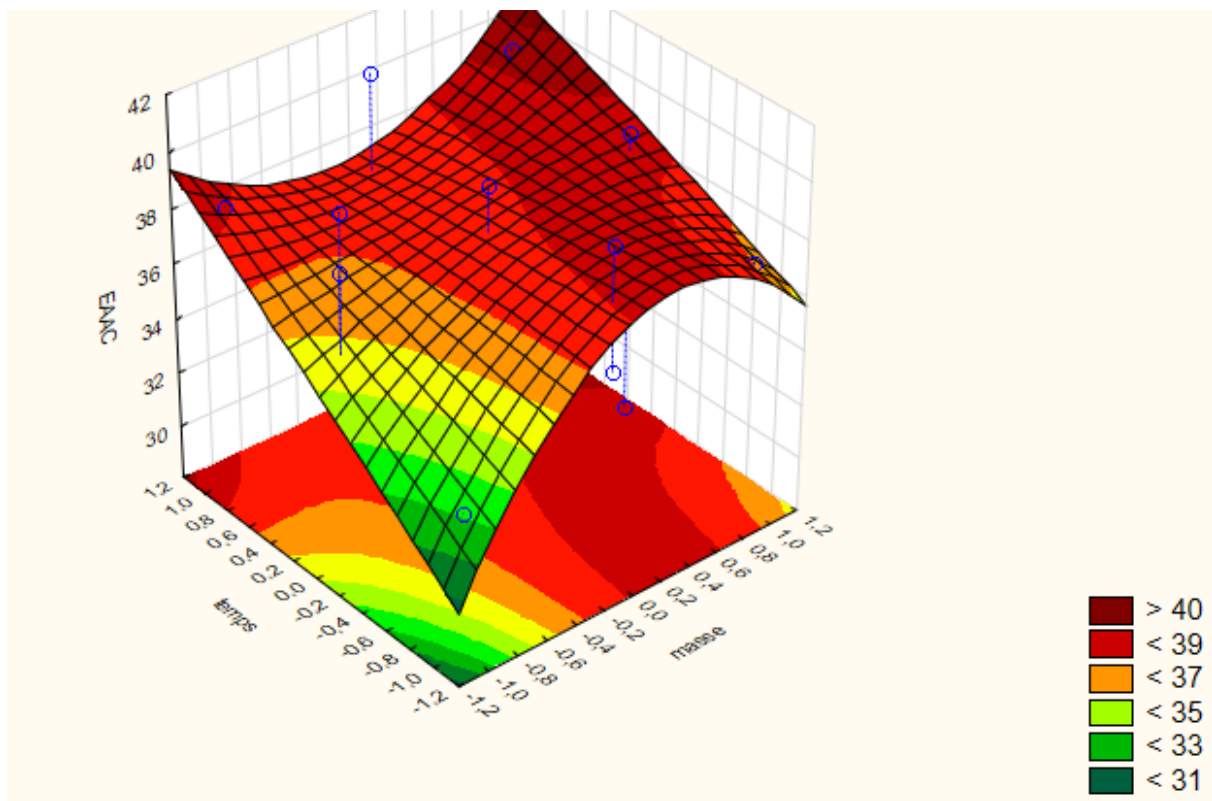


Figure 27: Surface de réponse pour les effets temps/masse sur l'activité antioxydante du *R. dpressum*

V.4.3.3.1. Temps -volume

Le temps d'extraction-volume de solvant (X_3X_2) influence d'une manière significative et joue un rôle important dans l'activité scavenger sur le radical DPPH avec $p=0,0467$. Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le volume, le temps d'extraction et l'activité antiradicalaire sont représentés dans la figure 29. Les résultats montrent l'activité scavenger sur le radical DPPH accroît lorsque le volume varie de 40 à 60 ml et le temps d'extraction de 20-30 min. Mais si on poursuit l'extraction avec des niveaux très élevés pour chaque paramètre, l'activité antioxydante augmente de 32 à 40 mg EAAC/g de MS. Ce qu'est compatible avec les résultats de composés flavonoidiques (figure 29)

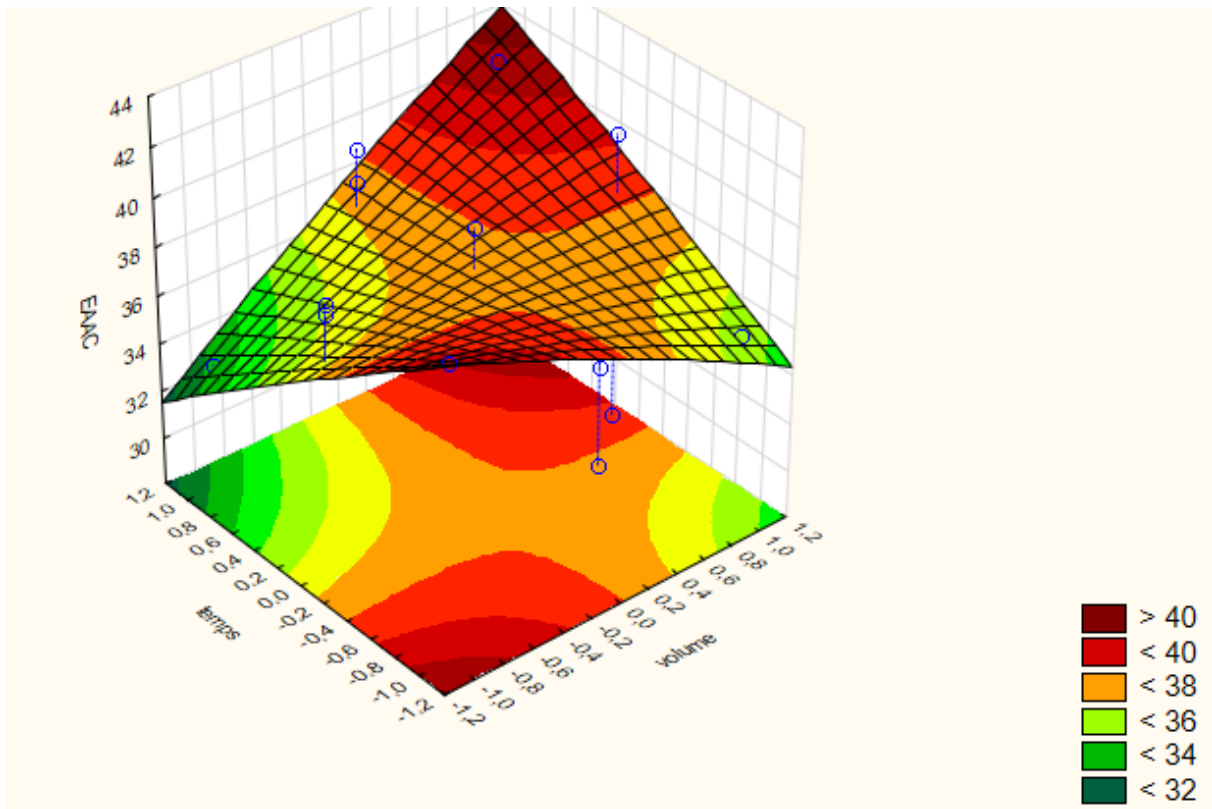


Figure 28 :Surface de réponse pour les effets temps/volume sur l’activité antioxydante du *R. dpressum*

V.4.4. 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 15 :Conditions optimales de l’activité scavenger DPPH par ultrason (mg EAAC/g de MS).

Tableau 15 : Conditions optimales de l'activité scavenger DPPH par ultrason (mg EAAC/g de MS).

Temps d'extraction (min)	Volume (ml)	Masse (g)	Valeur prédite (mg EAAC/g de MS)
27	55	1,85	56

VI. Conclusion

Ces dernières années, de nombreux chercheurs sont intéressés aux composés biologiquement actifs isolés d'extraits de plantes, qui sont considéré comme de véritables sources naturelles de substances dont il faut tirer le maximum de profit.

Cette étude a pour but la maîtrise du procédé d'extraction assistée par ultrasons de la de la plante *R. dpressum* dans la région de Laghouat. Ce travail a été réalisé par l'utilisation des plans d'expériences qui nous ont permis d'obtenir trois modèles, un modèle pour le rendement de composés phénoliques et un modèle pour l'atctivité antioxydante. Leur utilisation s'avère très utile en pratique et nous permettent d'apprécier un réglage optimum des paramètres du procédé d'extraction par sonication de *R. dpressum* au sein de laboratoire

La réponse est modélisée sous forme d'un polynôme en fonction des paramètres précités par l'application du plan de box-Benken et de la MRS. D'après l'étude statistique nous pouvons conclure que :

Les modèles obtenus sont statiquement significatif $p < 0,05$.

Il existe une corrélation satisfaisante entre les valeurs mesurées et les valeurs ajustées,

$R^2 = 0,90$ % et

$R^2_{ajus} = 0,89\%$.

Le plan box-Benken a permis d'identifier les meilleurs paramètres d'extraction ; composés phénolique (matière végétale 1.80g à un volume méthanol 42 ml pendant un temps d'extraction de 23 min) et un teneur de 74.89 (mg EAG/gMS) ; flavonoides (matière végétale 1.80g à un volume de méthanol 42 ml pendant un temps d'extraction de 28 min) et un teneur de 8.67 (mg EQ/g MS) et l'activité antiradicalaire (1.85g à un volume de méthanol 52 ml pendant un temps d'extraction de 27 min) et le teneur de cette activité antiradicalaire 56 (mg EAAC/g de MS)

La généralisation de ces modèles prédictifs demande une extension dans le domaine de la recherche et ouvre de nouvelles perspectives :

- L'usage de ces plans d'expériences sur d'autres composés de la plante dans le but de chercher un meilleur compromis entre le quantitatif et le qualitatif.
- Prendre en considération d'autres paramètres comme, la puissance, l'effet de la température, la fréquence etc...
- Prendre en considération d'autres réponses à optimiser en vue de développer les recherches pour d'autres composés de *R. dpressum*

- Optimiser l'extraction par sonication pour d'autres plantes.

Références

- [1] Uma, D., Ho, C., Wan Aida, W. (2010). Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) leaves. *Sains Malaysiana* 39, 119-128.
- [2] Hynes M.J., O’Coinceanainn M. (2001). The kinetics and mechanisms of the reaction of iron(III) with gallic acid, gallic acid methyl ester and catechin. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 85: 131–142.
- [3] Middleton E-Jr, Kandaswami C. and Theoharides T-C., (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52 : 673-751.
- [4] Naczk, M., Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal*, 41, 1523–1542.
- [5] Benaissa Ouahiba. (2011). Etude des métabolismes terpénique et flavonique d’espèces de la famille des composées, genres *Chrysanthemum* et *Rhantherium*. *Activité Biologique*. Thèse doctorat : Chimie organique Option Phytochimie : Constantine : Université de Mentouri Constantine, Algérie.
- [6] Chahrazed Hamia., Nadhir Gourine., Hadjer Boussoussa., Mokhtar Saidi., Emile M., Gaydou and Mohamed Yousfi. (2013). Chemical Composition and Antioxidant Activity of the Essential Oil and Fatty Acids of the Flowers of *Rhanterium adpressum*. *Natural Product Communications* Vol, 8 (0),1
- [7] Elhouiti Fatiha.(2018). Valorisation des huiles essentielles de *Rhanteriuma dpressum* Goss. & Durieu par analyse chimique et étude de leurs bioactivités .Thèse doctorat : Biochimie : Université Kasdi Merbah Ouargla(Algérie)
- [8] Hamia Chahrazed. (2015). Investigation phytochimique du *Rhanteriuma dpressum* pour ses propriétés antioxydantes et antiradicalaires .Thèse doctorat : Chimie organique appliquée Université Kasdi Merbah Ouargla, (Algérie).
- [9] Djermane Nadia. (2014). Extraction des métabolites secondaires de plantes médicinales: *Pulicaria arabica* (L.) Cass. et *Rhanteriuma dpressum* Coss. & Durieu. Et evaluation de leurs propriétés bioactives Mémoire de Magister en biochimie appliquée université Larbi Ben M’hidi, Oum el Bouaghi, Algérie.
- [10] Boizot et J-P. Charpentier. Méthode rapide d’évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d’un arbre forestier. *Cah. Tech. INRA*. N°. special. (2006). pp. 79-82

- [11] Gean-Jacques Macheix Annie Fleuriet Christian Jay-Allemand. (2005). Les Composés Phénoliques des Végétaux : Un Exemple de Métabolites Secondaires d'Importance Economique. Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, France
- [12] Chérifa Boubekri. (2014). Etude de l'activité antioxydante Des Polyphénols extraits De Solanum Melongena par des technique electrochimique thèse Doctorat : chimie : Biskra : Université de mohamedkhider Biskra, Algérie.
- [13] Almi Dalila., Etude du pouvoir antioxydant des composés et extraits polyphénoliques issus des olives et sous produits de l'olivier (feuilles et margines) variété chamlal sur l'oxydation thermique simulant la friture de deux huiles à large consommation : l'huile d'olive et l'huile de tournesol. Mémoire de Magister en Biochimie Appliquée et Biotechnologies. Université Mouloud Mammeri, Tiziouzou. Algérie.
- [14] Benchegra Hachimi, Haddad Djamel. (2013). Extraction et caractérisation des composés phénoliques de *Myrtus communis* L en vue de leur incorporation dans la margarine. diplôme d'Ingénieur d'Etat en Contrôle de Qualité et Analyse en Département des Sciences Alimentaires . Université Abderrahmane MIRA, Bejaia. Algérie
- [15] Tlili Mohammed Laid. (2015). Contribution à la caractérisation physico-chimique et biologique des extraits de *Pergularia tomentosa* issue de quatre sites sahariens différents (Sahara septentrional). Thèse de Magister en biochimie et analyse de bioproduits. Université universitékasdimerbah, Ouargla. Algérie.
- [16] Souilah Nabila. (2018). Etude de la composition chimique et des propriétés thérapeutiques traditionnelles et modernes des huiles essentielles et des composés phénoliques de quelques espèces du Nord-est algérien. Thèse doctorat, Chimie organique : Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie.
- [17] Thomas Michel. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : Application aux molécules bioactives de l'argousier (Hippophaë ramnoides). Thèse doctorat : Chimie Analytique – Phytochimie : Université de d'Orléans. France
- [18] Cristina-Gabriela Grigoraş. (2012). Valorisation des fruits et dessous produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse doctorat : Chimie Génie de l'environnement l'Environnement : Université d'Orléans et de l'Université « Vasile Alecsandri » de Bacău. 99 p.
- [19] Jadot, G. (1994). Antioxydants et vieillissement. John Libbey Eurotext.
- [20] Rouba Lamia. (2012) Activités antioxydante et anticoagulante des polyphénols des graines de *Nigella arvensis* L. Mémoire magister en Biochimie appliquée. Université ferhat abbes, Sétif. Algérie.
- [21] Harrar Abd El Nacer. (2012). Activités antioxydante et antimicrobienne d'extraits de *Rhamnus alaternus* L. Thèse de Magister en Biochimie et physiologie expérimentale. Université Ferhat Abbes, Sétif. Algérie.
- [22] Mansar lina norhane ,makhloufi imene (2017). contribution à l'étude de l'effet oxydant par le sulfate de fer et le tétrachlorure de carbone et l'effet protecteur et antioxydant d'un

extrait végétal butanolique et de la vitamine e.mémoire master : toxicologie et santé Constantine : Université de Mentouri Constantine, Algérie.

[23] Maamri Sarah., (2008). Etude de *Pistacia atlantica* de deux régions de sud algérien : dosage des lipides, dosage des polyphénols, essais antileishmaniens. Thèse de Magister en Biochimie et Microbiologie appliquées. Université M'hamedbougara, Boumerdes. Algérie

[24] Pastre Justine .(2005). Interêt de la supplementation en antioxydants dans l'alimentation des carnivores domestique. Thèse doctorant : Université Paul-sabatier de Toulouse, France.

[25] Mellekhedda Aicha., Maziri Karima. (2019). Etude de la cinétique et isotherme d'adsorption de bleu de méthylène sur les nanotubes d'halloysites mémoire master : Chimie Pharmaceutique : Khemis Miliana: Université Djilali Bounaâma Khemis Miliana , Algérie.

[26] Thomas Michel. (2011). Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: Application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophaë ramnoides*) Thèse doctorat : Chimie Analytique – Phytochimie l'université d'Orléans , France

[27] Rasmal Hadjer Nahla., Kermane Zahia.,2016-2017. modification de la bentonite par l'hexadecyltrimethylammonium application a l'adsorption du l'indigo carmine mémoire de master en Chimie Inorganique & Environnement. Université Dr Moulay Tahar – Saïda , Algérie.

[28] Mahiddine Safa. (2018). Eco-extraction de l'espece vegetale foeniculum vulgare mill. par hydrodistillation.caracterisation systematique et modelisation parametrique. memoire de master en Génie des procédés pharmaceutiques . Université Badji mokhtar, Annaba . Algérie.

[29] Mesrane Karima., (2018). Optimisation de l'extraction assistée par l'ultrason des composés phénoliques du jujubier *Ziziphus lotus* mémoire de master : Agroalimentaire et Contrôle de Qualité : Bouira Université Akli mohand Oulhadj – Bouira , Algérie.

[30] Kimouche Karima.(2008). Etude de quelques plans d'expériences associées aux surfaces de réponse Thèse doctorat : Departement de mathematiques : Constantine : Université de Mentouri Constantine, Algérie.

[31] Jacques, G. O. U. P. Y. (2001). Introduction aux Plans d'expériences. *Dunod. Paris*.

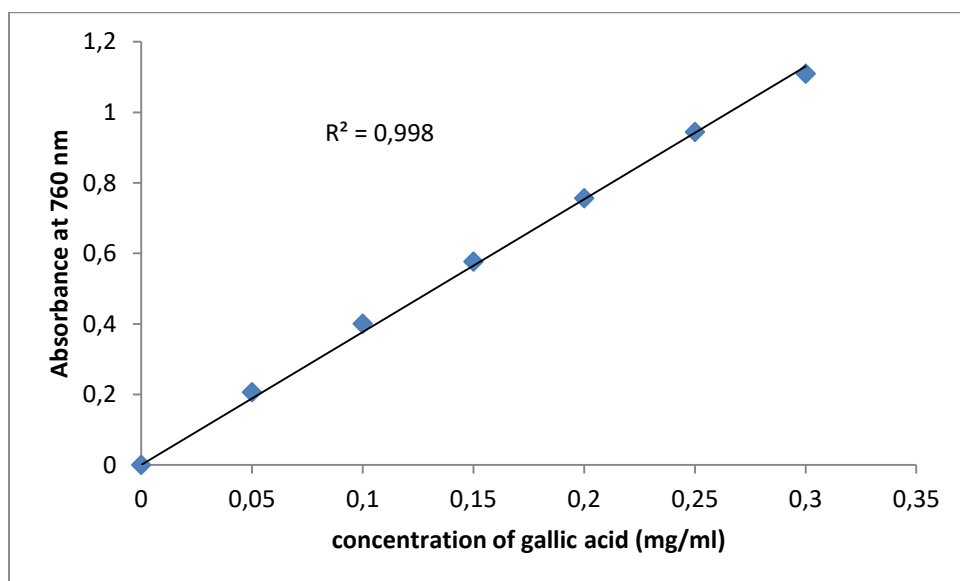
[32] Ben Ahmed, Z., Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., & Vander Heyden, Y. (2017). Seasonal, gender and regional variations in total phenolic, flavonoid, and condensed tannins contents and in antioxidant properties from *Pistacia atlantica* ssp. leaves. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 1185-1194.

[33] Ben Ahmed, Z., Mohamed, Y., Johan, V., Dejaegher, B., Demeyer, K., & Vander Heyden, Y. (2020). Defining a standardized methodology for the determination of the antioxidant capacity: case study of *Pistacia atlantica* leaves. *The Analyst*, 145(2), 557–571. <https://doi.org/10.1039/c9an01643k>

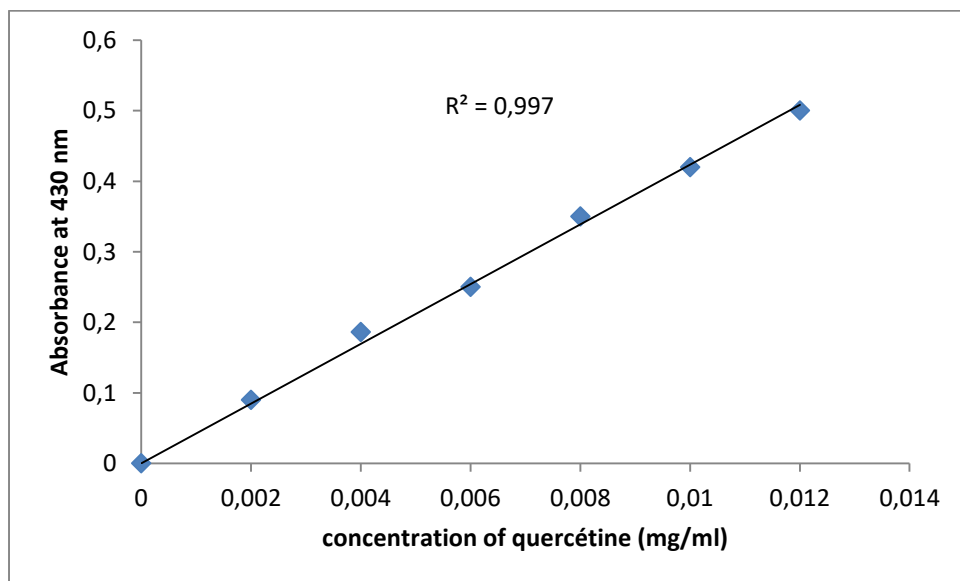
[34] Ben Ahmed, Z., Yousfi, M., Viaene, J., Dejaegher, B., Demeyer, K., Mangelings, D., & Vander Heyden, Y. (2016). Determination of optimal extraction conditions for phenolic compounds from *Pistacia atlantica* leaves using the response surface methodology. *Analytical methods*, 8(31), 6107-6114.

- [35] Prasad, K. N., Hassan, F. A., Yang, B., Kong, K. W., Ramanan, R. N., Azlan, A. and Ismail, A. (2011). «Response surface optimisation for the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacities of underutilized *Mangifera pumila* Kosterm. peels,» *Food Chemistry* , 128 (2011):1121–1127.
- [36] Majid, M. H., Rajaei, A., Bashi, D. S., Mortazavif, S. A. and Bolourian, S. (2014). «Optimization of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds from bovine pennyroyal (*Phlomis chemaparvi florum*) leaves using response surface methodology,» *Industrial Crops and Products* , vol. 57 :195–202.
- [37] Goupy, J. and Creighton, L. (2006). «Introduction aux plans d'expériences». Dunod, Paris, 324p.
- [38] Alberti, A., Zielinski, A. A. F., Zardo, D. M., Demiate, I. M., Nogueira, A. and Mafra, L. I. (2013). «Optimisation of the extraction of phenolic compounds from apples using response surface methodology,» *Food Chemistry* , 149 (2014):151–158.
- [39] Akalin, M. K., Tekin, K., Akyüz, M. and Karagöz, S. (2015). «Sage oil extraction and optimization by response surface methodology,» *Industrial Crops and Products* , vol. 76 :829–835.
- [40] Yang, L., Cao, Y. L., Jiang, J. G., Lin, Q. S., Chen, J., Zhu, L. (2010). «Response surface optimization of ultrasound-assisted flavonoids extraction from the flower of *Citrus aurantium* L. var. *amara* Engl,» *J. Sep. Sci.*, vol. 33:1349–1355.
- [41] Rajopadhye, A., A., Upadhye, A., S., Dandge, C., N., and Naik, D., G. (2016). «Essential Oil From Leaf Galls on *Pistacia chinensis* ssp. *integerrima*: Chemical Composition, In Vitro and In Vivo Antioxidant and Hepatoprotective Activity .» *TEOP* 19(7): 1648 - 1659.

Courbe d'étalonnage d'acide Gallique (composé phénolique)

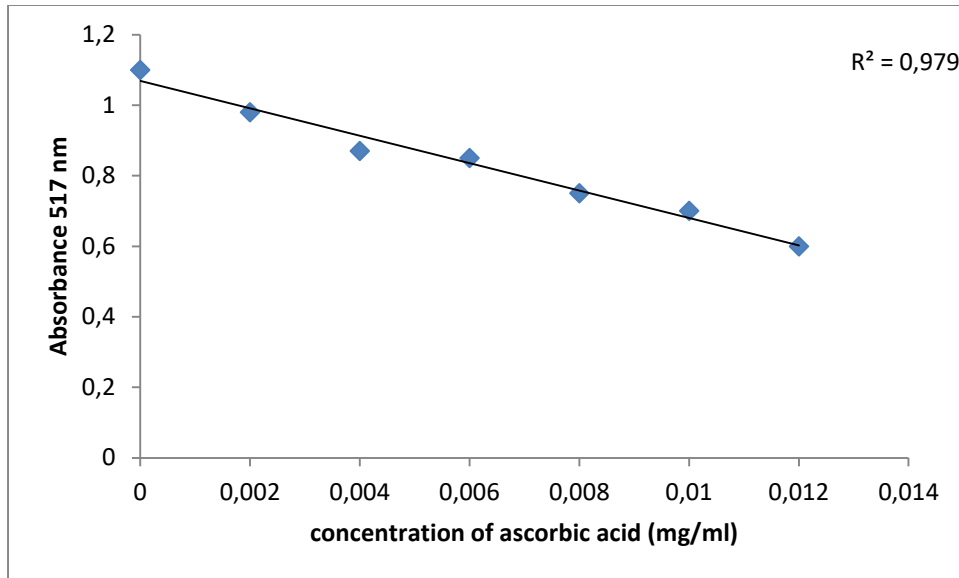


Courbe standard de Quercétine (flavonoïdes)



ANNEXE

Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique (antioxydante)



الملخص

يهدف هذا العمل إلى دراسة وتفضيل طريقة استخراج استخلاص مضادات الأكسدة و المركبات الفينولية من نبتة العرفج بواسطة الموجات فوق الصوتية ذلك من أجل تحسين ظروف استخراج هذه المواد حيث استخدمنا طريقة استجابة السطح التي طورتها خطة بوكس- بهنكن. أظهرت النتائج أن أفضل نموذج للمركبات الفينولية (العينة 1.75 غ، المذيب ميثانول 42 مل فترة الاستخراج 23 دقيقة)، الفلافونويدات (العينة 1.80 غ، المذيب ميثانول 55 مل فترة الاستخراج 28 دقيقة)، النشاط المضاد للأكسدة (العينة 1.85 غ، المذيب ميثانول 55 مل فترة الاستخراج 27 دقيقة)

الكلمات المفتاحية: الاستخلاص ، التحسين ، المركبات الفينولية ، الفلافونويد ، النشاط المضاد للأكسدة ، نبتة العرفج بوكس- بهنكن

Résumé

La présente étude est portée sur l'optimisation de l'extraction des antioxydants des composés phénoliques de la matière végétale de la plante du *Rhantherium adpressum* Coss. & Durieu. En utilisant la méthode de surface de réponse développée par le plan BBD. Les conditions expérimentales optimales permettant une maximisation de l'extraction de composés phénolique (matière végétale 1.75g à un volume méthanol 42 ml pendant un temps d'extraction de 23 min) ; flavonoides (matière végétale 1.80g à un volume 55 ml pendant un temps d'extraction de 28 min); activité antiradicalaire (1.85g à un volume 55 ml pendant un temps d'extraction de 27 min).

Mots clés : activité antioxydante, extraction, optimisation, plante du *Rhantherium adpressum* Coss. & Durieu , composés phénolique, flavonoids, antioxydante , box behnken.

Abstract

The present study focuses on the optimization of extraction of antioxidants by the determination of the phenolic compounds of the extracts of the powders of *P.atlantica* galls using the response surface method developed by the BBD plan. The optimal experimental conditions for maximizing the extraction of phenolic compounds from *P.atlantica* galls are: the mass 1.5 g with methanol solvent 60 ml for a time of 25 minutes, for the flavonoids the mass 1.5 g with methanol solvent 60 ml for a time of 25 minutes, for the antioxidant activity of DPPH the mass 1.5 g with methanol solvent 60 ml for a time of 25 minutes.

Key words: antioxidant activity, extraction, optimization, leaf of *Anvillea radiata*, phenolic compounds, flavonoids, antioxidant activity, box behnken.

