

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département : Génie Chimique

Laboratoire de Valorisation des Energies Fossiles

Thèse de Doctorat D-LMD

Master en Génie Chimique de l'ENP, Alger

**Extraction et valorisation des polyphénols de
substrats végétaux**

Sara AMROUCHE épouse MEZIECHE

Sous la direction de Mme Faroudja MOHELLEBI, Professeure

Présentée et soutenue publiquement le (14 / 07 / 2021)

Composition du Jury :

Président	M. El-Hadi BENYOUSSEF	Professeur	ENP, Alger
Promotrice	Mme Faroudja MOHELLEBI	Professeure	ENP, Alger
Examineur	M. Abdelkader NAMANE	Professeur	ENP, Alger
Examinatrice	Mme Naima SAHRAOUI	Maitre de Conférences A	USTHB, Alger
Examineur	M. Ryad AMDOUNE	Directeur de Recherche	INRF, Alger
Invitée	Mme Ratiba DERRICHE	Professeure	ENP, Alger

ENP 2021

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Ecole Nationale Polytechnique



Département : Génie Chimique

Laboratoire de Valorisation des Energies Fossiles

Thèse de Doctorat D-LMD

Master en Génie Chimique de l'ENP, Alger

**Extraction et valorisation des polyphénols de
substrats végétaux**

Sara AMROUCHE épouse MEZIECHE

Sous la direction de Mme Faroudja MOHELLEBI, Professeure

Présentée et soutenue publiquement le (14 / 07 / 2021)

Composition du Jury :

Président	M. El-Hadi BENYOUSSEF	Professeur	ENP, Alger
Promotrice	Mme Faroudja MOHELLEBI	Professeure	ENP, Alger
Examineur	M. Abdelkader NAMANE	Professeur	ENP, Alger
Examinatrice	Mme Naima SAHRAOUI	Maitre de Conférences A	USTHB, Alger
Examineur	M. Ryad AMDOUNE	Directeur de Recherche	INRF, Alger
Invitée	Mme Ratiba DERRICHE	Professeure	ENP, Alger

ENP 2021

ملخص : استخلاص وتثمين البوليفينول المستخرج من النباتات

جذبت عملية الاستخلاص الإيكولوجي للمركبات الفينولية المضادة للأكسدة من النباتات الطبية قدرا كبيرا من الاهتمام في السنوات الأخيرة بسبب استخدامها في مختلف المجالات، خاصة في الطب العلاجي. في هذا السياق تتمحور هذه الدراسة حول ثلاثة أهداف رئيسية: أولاً، تم إجراء تحسين للمعايير التكنولوجية الرئيسية في الإستخلاص المائي للبوليفينول من نبات المقرمان (درجة الحرارة، نسبة النبتة إلى محلول الإستخلاص، سرعة التحريك) بطريقة الاستجابة السطحية من خلال هذه الدراسة تم تحديد الظروف المثلى للإستجابات المختلفة لإنتاج البوليفينول الكلي، الفلافونويد، الأنثوسيانين والنشاط المضاد للأكسدة كما تم إجراء تحسين مردود إستخلاص البوليفينول الكلي وقوة المضادات الحيوية معا في وقت واحد من جهة أخرى أجري فحص تأثير الدورة النباتية للمقرمان وكذلك دراسة مستفيضة لتأثير وسط الإستخلاص (الرقم الهيدروجيني لمحلول الإستخلاص) على محصول المركبات الفينولية المختلفة، وعلى قدرة مضادات الأكسدة أيضا وذلك في ظل الظروف المثلى المتحصل عليها سابقا كجزء من محور العمل الأول تمت تنقية المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق تقنية الإستخلاص سائل - سائل باستخدام أسيتات الإيثيل متبوعة بتقدير وحساب خصائص مضادات الأكسدة. قدم الجزء الثاني من الدراسة النتائج الأولى على حركية الإستخلاص المائي للبوليفينول من نبات المقرمان كما عملنا على نمذجة آلية الإستخلاص المستخدمة بالإستعانة بثلاثة طرق: النمذجة التجريبية، النمذجة بواسطة النماذج الأساسية والنمذجة بواسطة الشبكات العصبية الاصطناعية. أدت محاكاة النماذج المقترحة وكذلك تحليل التباين إلى إختيار النماذج الأكثر ملاءمة أخيرا، في مقارنة الكيمياء الخضراء، درسنا واقترحنا بعض الحلول لتحسين كفاءة الإستخلاص مع التركيز على خفض تكاليف الطاقة و آثار التلوث البيئي.

الكلمات المفتاحية المقرمان - بوليفينول - إستخلاص سائل/صلب - تحسين - نمذجة

Abstract: Extraction and valorization of polyphenols from plant substrates.

The ecoextraction of antioxidant phenolic compounds from plant substrates has attracted a great deal of interest in recent years because of their use in various fields, particularly in therapeutic medicine. It is in this context that our work is articulated around three main objectives:

Firstly, optimization of the key technological parameters in the aqueous extraction of *Inula viscosa* polyphenols (temperature, solid-to-liquid ratio and stirring speed) using response surface methodology (RSM) was realized. The conditions optimizing the different responses (yield of total polyphenols, flavonoids, anthocyanins and antiradical activity) were determined. A multi-response optimization of the total polyphenols content and the antiradical power simultaneously was also performed.

Examination of the influence of the vegetative cycle of the plant as well as a thorough study of the effect of the extraction medium (pH of the extraction solution) on the yield of different phenolic compounds, on the antioxidant capacity also on the kinetics of extraction were established under the optimal conditions of extraction found previously.

Purification of the extracts obtained by liquid-liquid extraction with ethyl acetate followed by determination and calculation of the antioxidant characteristics was also part of this first working axis.

The second part of the study provided the first results on the kinetics of aqueous extraction of *Inula viscosa* polyphenols as well on the extraction mechanism modeling involved using three approaches: empirical modeling, modeling by fundamental models and modeling by artificial neural networks. A simulation of the proposed models as well as an analysis of variance led to the selection of the most appropriate models.

Finally, in a green chemistry approach, we studied and proposed some solutions to improve extraction efficiency while reducing energy expenditure and the ecological footprint.

Keywords: *Inula viscosa*, polyphenols, solid-liquid extraction, optimization, modeling.

Résumé : Extraction et valorisation des polyphénols de substrats végétaux

L'écoextraction des composés phénoliques antioxydants à partir de substrats végétaux a, ces dernières années, suscité beaucoup d'intérêt en raison de leurs utilisations dans différents domaines notamment en médecine thérapeutique. C'est dans ce contexte que notre travail s'est articulé autour de trois objectifs principaux :

Dans un premier temps, une optimisation des paramètres technologiques clés dans l'extraction aqueuse des polyphénols d'inule visqueuse (température, rapport solide/liquide et vitesse d'agitation) par la méthode de surface de réponse (MSR) a été réalisée. Les conditions optimisant les différentes réponses (rendement en polyphénols totaux, en flavonoïdes, en anthocyanes et activité antiradicalaire) ont été déterminées et une optimisation multi-réponses de la teneur en polyphénols totaux et du pouvoir antiradicalaire a été simultanément effectuée. L'examen de l'influence du cycle végétatif de la plante de même qu'une étude approfondie de l'influence du milieu d'extraction (pH de la solution d'extraction) sur le rendement en différents composés phénoliques, sur la capacité antioxydante ainsi que sur la cinétique d'extraction ont été établis sous les conditions optimales d'extraction trouvées précédemment. L'autre volet de ce premier axe de travail porte sur la purification des extraits obtenus par une extraction liquide-liquide par l'Acétate d'Éthyle mais aussi sur la détermination et le calcul des caractéristiques antioxydantes.

La deuxième partie de cette recherche s'est focalisée sur la cinétique d'extraction aqueuse des polyphénols d'inule visqueuse également sur la modélisation du transfert de matière impliqué dans le processus et ce, par l'application de trois approches que sont : la modélisation par des modèles cinétiques et/ou l'application de la loi de Fick , la modélisation par des modèles théoriques et la modélisation par les réseaux de neurones artificiels. Une simulation des modèles proposés ainsi qu'une analyse de variance ont conduit au choix des modèles les plus appropriés.

Enfin, dans une démarche de chimie verte, nous avons étudié et proposé certaines solutions pouvant améliorer l'efficacité de l'extraction tout en diminuant les dépenses énergétiques et l'empreinte écologique.

Mots clés : Inule visqueuse, polyphénols, extraction solide-liquide, optimisation, modélisation.

Remerciements

Mes remerciements s'adressent en premier lieu à ALLAH, Le Tout-Puissant de m'avoir donné, la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout, merci ALLAH de m'avoir donné le savoir et les moyens pour arriver à ce stade de connaissance et pour élaborer ce modeste travail.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à ma directrice de thèse, Madame Faroudja Mohellebi, Professeur à l'ENP. Je la remercie vivement de m'avoir encadrée, orientée, aidée et conseillée. Qu'elle soit aussi remerciée pour son professionnalisme, sa rigueur et sa disponibilité permanente.

J'adresse tous mes remerciements à Madame Ratiba Derriche, Professeur à l'ENP, qui m'a Co-encadrée tout au long de cette thèse et qui m'a fait partager ses brillantes intuitions et ses conseils précieux.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur El-Hadi Benyoussef pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce jury.

J'exprime également ma reconnaissance à l'ensemble des membres du jury: Mme Naima Sahraoui, M. Ryad Amdoun, M. Abdelkader Namane pour l'attention qu'ils ont bien voulu accorder à l'examen de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude et de ma considération.

J'adresse mes plus vifs remerciements à ma deuxième famille, toute l'équipe du Département Génie chimique qui m'a accompagnée au jour le jour durant ces longues années d'étude.

Enfin, que tous mes proches et amis trouvent ici l'expression de ma profonde gratitude pour leur aide et surtout pour leur soutien moral tout au long de ce travail.



Aux deux étoiles qui ont éclairé le chemin de la vie. A ceux qui m'ont tout donné sans rien en retour : **mes très chers parents.**

Pour leurs dévouements exemplaires et les énormes sacrifices qu'ils ont consentis en ma faveur durant mes études et pour toujours avoir aimé me voir réussir : **Je ne trouverai jamais les mots pour les remercier...**

A un réel trésor qui me donne confiance en moi vers chaque étape de ma vie. A mon âme : A Toi Kamel ! Depuis que je t'ai connu, tu n'as cessé de me soutenir et de m'épauler. Tu me voulais toujours la meilleure.

Sans votre présence et votre aide, sans votre soutien inconditionnel et vos encouragements, vous, les trois, ce travail n'aurait pu être réalisé.

A ceux qui ont su être bons, gentils et compréhensifs avec moi, A ceux qui m'ont toujours encouragée et soutenue moralement : **Mes très chers grands-parents.**

A mes trois anges : Merièmè, Abdellah et Younes, sources de joie, de rire, parfois de pleurs ! Mais surtout de bonheur et d'amour. C'est vrai que c'était trop difficile de faire ma thèse en votre présence, chers bébés ^_^ mais très heureuse de pouvoir relever ce défi « Grâce à Dieu » !

A celle qui m'a toujours ouvert ses bras et soutenue, celle qui m'a écoutée, encouragée et aidée, dans tout ce que j'ai entrepris, celle qui a toujours été là dans mes moments de détresse : ma très chère et unique sœur « **Zhor** ». Ta place dans mon cœur est particulière. Nulle parole ne peut exprimer ma profonde affection à ton égard. Je te souhaite tout le bonheur et le succès que tu mérites tant.

A mes deux petits frères : **Abdellah** et **Abdelghani** que j'aime énormément.

A ceux qui ont su m'aimer, me supporter, qui étaient toujours et encore à mes côtés : **mes chers oncles et mes chères tantes.**

A mes beaux parents et mes belles sœurs

A mes chers cousins et cousines

A mes chères amies

Et

A tous ceux dont l'oubli du nom n'est pas celui du cœur.

Sara

TABLE DES MATIERES

LISTE DES TABLEAUX	
LISTE DES FIGURES	
SYMBOLES	
ABREVISATIONS	
Introduction générale	17
Partie 1 : Revue bibliographique	
Introduction	20
Chapitre 1 : Les antioxydants	
1.1. Introduction	22
1.2. Historique	22
1.3. Définitions	22
1.4. Mécanismes d'oxydation	25
1.5. Evaluation de l'activité antioxydante	25
1.6. Utilisation des antioxydants	27
1.7. Conclusion	27
Chapitre 2 : Les polyphénols	
2.1. Introduction	29
2.2. Définition	29
2.3. Biosynthèse des polyphénols	29
2.4. Classification des polyphénols	30
2.5. Propriétés des polyphénols	35
2.6. Rôles et intérêts des polyphénols	35
2.7. Conclusion	36
Chapitre 3 : L'Inule visqueuse	
3.1. Introduction	38
3.2. Description botanique	38
3.3. Aspect anatomique	39
3.4. Répartition géographique	42
3.5. Phénologie	42
3.6. Aspects phytochimiques	43
3.7. Effets thérapeutiques et utilisations diverses	44
3.8. Travaux récents sur l'extraction de l'inule visqueuse	45
3.9. Conclusion	47
Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques	
4.1. Introduction	49
4.2. Quelques définitions	49
4.3. Facteurs influençant les performances de l'extraction	49
4.4. Les différentes méthodes d'extraction	52
4.5. Résumé des avantages et inconvénients extractions conventionnelles et quelques méthodes innovantes d'extraction	61
4.6. Travaux récents dans le domaine d'extraction des polyphénols par solvant	63
4.7. Conclusion	67
Chapitre 5: Approche fondamentale des processus	
5.1. Introduction	69
5.2. Mécanisme d'extraction et d'interaction solide/liquide	69
5.3. Coefficients de transfert de matière	72
5.4. Equations gouvernantes du transfert de masse	72
5.5. Conclusion	75
Partie 2 : Matériels et méthodes	
Chapitre 6: Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification	
6.1. Matériel végétal	78
6.2. Réactifs chimiques et standards analytiques	78

TABLE DES MATIERES (Suite)

6.3. Caractérisation de la matière végétale	79
6.4. Procédure d'extraction	83
6.5. Méthodes analytiques de dosage des composés phénoliques	84
Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse	
7.1. Introduction	93
7.2. Optimisation des paramètres technologiques par plan d'expériences	93
7.2.1. Paramètres opératoires à optimiser	93
7.2.2. Critères d'optimisation	93
7.2.3. Détermination du domaine d'étude	93
7.2.4. Etude préliminaire	94
7.2.5. Optimisation par plan factoriel complet	97
7.2.6. Application de la méthode des surfaces de réponse	99
7.2.7. Interprétation des résultats de l'optimisation par plan d'expériences	115
7.3. Influence des conditions opératoires sur l'extraction des composés phénoliques sous les paramètres technologiques optimisés précédemment	121
7.3.1. Influence de la concentration initiale du solvant d'extraction en polyphénols et du nombre d'extraction.	121
7.3.2. Influence de la nature du milieu d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et sur le pouvoir antioxydant.	123
7.3.3. Interprétation des résultats de l'étude de l'influence des conditions d'extraction	127
7.4. Conclusion	130
Chapitre 8: Purification des extraits bruts et détermination des caractéristiques antioxydantes	
8.1. Introduction	133
8.2. Détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits de la première série d'expériences (plan composite)	133
8.3. Détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits de la deuxième série d'expériences (différents milieux d'extraction)	137
8.4. Comparaison entre les caractéristiques antioxydantes des extraits bruts et purifiés avec les caractéristiques des antioxydants synthétiques	145
8.5. Conclusion	146
Chapitre 9: Modélisation du phénomène de transfert de matière	
9.1. Introduction	148
9.2. Données expérimentales pour la construction des modèles mathématiques	148
9.2.1. Etude cinétique	148
9.2.2. Évaluation du potentiel extractible et détermination du coefficient de partage.	149
9.2.3. Détermination des paramètres intrinsèques.	153
9.3. Modélisation de la cinétique d'extraction	153
9.3.1. Première approche de modélisation	154
9.3.2. Modélisation théorique	161
9.3.3. Validation des modèles de la première et de la deuxième approches de modélisation	168
9.3.4. Modélisation par les réseaux de neurones artificiels (RNA)	173
9.4. Critères de choix des modèles étudiés	183
9.5. Conclusion	184
Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des composés phénoliques d'inule visqueuse	
10.1. Introduction	187
10.2. Aspects environnementaux spécifiques au processus d'extraction solide liquide des polyphénols d'inule visqueuse	187

TABLE DES MATIERES (Suite)

10.2.1. Analyse du processus technologique	187
10.2.2. Détermination des facteurs polluants d'une opération d'extraction solide liquide des composés phénoliques d'inule visqueuse.	190
10.2.3. Identification des aspects environnementaux	192
10.2.4. Evaluation de l'impact des aspects environnementaux identifiés	193
10.3. Remédiation des aspects environnementaux à impact significatif.	194
10.3.1. Traitement et valorisation des résidus liquides	194
10.3.2. Traitement et valorisation des résidus solides	200
10.3.3. Diminution de la consommation énergétique et de l'empreinte écologique	202
10.4. Conclusion	206
Conclusion générale	208
Références bibliographiques	212
Annexes	241

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1	Applications médicinales des polyphénols.	36
Tableau 3.1	Taxonomie de l'inule visqueuse.	38
Tableau 3.2	Travaux récents sur l'extraction par solvant des principes actifs d'inule visqueuse.	46
Tableau 4.1	Etude comparative entre les extractions conventionnelles et quelques méthodes innovantes d'extraction.	62
Tableau 4.2	Travaux récents sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques	64
Tableau 6.1	Réactifs chimiques et standards analytiques employés.	79
Tableau 6.2	Analyse granulométrique.	80
Tableau 6.3	Taux d'humidité de la poudre d'inule visqueuse.	82
Tableau 6.4	Masse volumique des feuilles de l'inule visqueuse.	83
Tableau 7.1	Domaine d'étude.	89
Tableau 7.2	Quantité de polyphénols totaux et activité antiradicalaire représentée par IC ₅₀ des extraits d'inule visqueuse.	94
Tableau 7.3	Teneur totale en polyphénols et activité antiradicalaire représentée par IC ₅₀ des hydrolats d'inule visqueuse.	95
Tableau 7.4	Caractéristiques physico-chimiques de l'eau dans le domaine d'étude choisi.	96
Tableau 7.5	Cinétique d'extraction des polyphénols totaux.	97
Tableau 7.6	Résultats de l'extraction des polyphénols pour le modèle de premier ordre.	98
Tableau 7.7	Coefficients du modèle de premier ordre pour la détermination de la teneur en polyphénols.	98
Tableau 7.8	Limites de variation des paramètres opératoires.	100
Tableau 7.9	Valeurs de α pour différentes valeurs de n_0 .	101
Tableau 7.10	Calcul des valeurs réelles et réduites.	101
Tableau 7.11	Conception de surface de réponse et valeurs de réponse correspondantes pour l'extraction aqueuse.	102
Tableau 7.12	Coefficients de régression des facteurs codés, coefficient de détermination (R^2), écarts-types et non-ajustement des modèles polynomiaux de second ordre représentant la teneur en polyphénols totaux, le taux de flavonoïdes, la quantité d'anthocyanes et l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse pour le mois de Juillet (a) et le mois de Décembre (b).	105
Tableau 7.13	Equations polynomiales décrivant les données expérimentales de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse et leurs coefficients de régression respectifs R^2 (Les paramètres non significatifs sont simplifiés).	109
Tableau 7.14	Optimisation des différentes réponses par plan d'expériences.	114
Tableau 7.15	Influence du rapport S/L sur le rendement en polyphénols.	118
Tableau 7.16	Réponses d'extraction en fonction de la concentration initiale du solvant en polyphénols totaux.	121
Tableau 7.17	Réponses d'extraction successives par l'eau distillée à différentes concentrations.	122
Tableau 7.18	Solutions utilisées pour l'étude de l'influence du pH sur l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse.	123
Tableau 7.19	Propriétés physico-chimiques des extraits d'inule visqueuse.	124
Tableau 7.20	Rendement final en polyphénols totaux des extraits d'inule visqueuse.	125
Tableau 7.21	Teneurs en flavonoïdes et en anthocyanes des extraits bruts.	126
Tableau 8.1	Caractéristiques antioxydantes des extraits bruts (Plan composite).	134
Tableau 8.2	Caractéristiques antioxydantes des extraits purifiés sous les conditions optimales d'extraction.	137
Tableau 8.3	Détermination de la concentration inhibitrice IC ₅₀ des extraits bruts (Différents milieux d'extraction).	138

LISTE DES TABLEAUX (Suite)

Tableau 8.4	Concentration effective CE_{50} des extraits bruts (Différents milieux d'extraction).	138
Tableau 8.5	Récapitulatif des valeurs trouvées pour $t_{CE_{50}}$ et t_{eq} (extraits bruts, 2 ^{ème} série d'expériences).	139
Tableau 8.6	Indice d'efficacité antiradicalaire des extraits bruts (Différents milieux d'extraction) et des antioxydants standards.	140
Tableau 8.7	Purification des extraits bruts (Différents milieux d'extraction).	141
Tableau 8.8	Teneur en polyphénols totaux après purification et distillation sous vide.	142
Tableau 8.9	Concentration inhibitrice IC_{50} des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).	143
Tableau 8.10	Concentration effective CE_{50} des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).	144
Tableau 8.11	Temps caractéristique $t_{CE_{50}}$ des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).	145
Tableau 8.12	Indice d'efficacité antiradicalaire des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction)	145
Tableau 8.13	Caractéristiques antioxydantes des extraits bruts et purifiés (Différents milieux d'extraction).	145
Tableau 9.1	Conditions opératoires appliquées.	149
Tableau 9.2	Extractions successives par solvant frais.	151
Tableau 9.3	Détermination du coefficient de partage (Plan composite).	152
Tableau 9.4	Impact des conditions de fonctionnement sur les paramètres des modèles de la première approche de modélisation (Plan d'expériences).	158
Tableau 9.5	Analyse d'erreur pour l'ajustement des données expérimentales (Optimum d'extraction). Première approche de modélisation	159
Tableau 9.6	Influence des conditions opératoires sur les paramètres des modèles théoriques et sur les propriétés de transfert de masse (Plan composite).	165
Tableau 9.7	Analyse d'erreurs pour l'ajustement des données expérimentales (Optimum d'extraction). Cas de la modélisation théorique.	166
Tableau 9.8	Analyse d'erreur pour l'ajustement des données expérimentales (Optimum d'extraction).	168
Tableau 9.9	Validation des modèles de la première approche de modélisation (Optimum d'extraction).	169
Tableau 9.10	Validations des modèles théoriques (Optimum d'extraction).	169
Tableau 9.11	Les valeurs de la déviation de la racine de la moyenne des carrés des expériences du plan composite et des expériences de validation.	170
Tableau 9.12	Variables expérimentales, intervalles de variation et nombre de points du jeu de données.	175
Tableau 10.1.	Caractéristiques des différentes opérations impliquées dans l'extraction des composés phénoliques.	188
Tableau 10.2	Demande énergétique cumulative (DEC) de production de solvants.	191
Tableau 10.3	Consommation moyenne de solvants et de réactifs, bilans énergétique et de carbone, les différents rejets d'une extraction solide liquide.	192
Tableau 10.4	Aspects environnementaux spécifiques au processus d'extraction des composés phénoliques d'inule visqueuse et à leurs impacts sur l'environnement.	193
Tableau 10.5	Evaluation de l'impact des aspects environnementaux.	194
Tableau 10.6	Aspects environnementaux significatifs.	194
Tableau 10.7	Résultats de l'étude de valorisation des eaux résiduelles d'extraction.	195
Tableau 10.8	Paramètres physicochimiques et de pollution des eaux usées résiduelles.	197
Tableau 10.9	Indicateurs de performance et limite de variation.	197
Tableau 10.10	Consommation électrique et bilan carbone pour les opérations les plus énergivores.	202

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1	Phase de déclenchement.	25
Figure 1.2	Phase de propagation.	25
Figure 1.3	Modification du DPPH• lors du transfert électronique	26
Figure 2.1	Sentiers de biosynthèse des polyphénols: (a) sentier acétate, (b) sentier shikimate, (c) sentier de formation des flavonoïdes.	30
Figure 2.2	Structure chimique des acides gallique (A) et ellagique (B)	32
Figure 2.3	Structure du squelette de base des flavonoïdes	34
Figure 3.1	Feuilles (a), fleurs (b), grains (c) et fruits d'inule visqueuse(d).	39
Figure 3.2	Vue microscopique de la racine jeune (a) et âgée (b) d'inule visqueuse	40
Figure 3.3	Tissus de la tige d'inule visqueuse	40
Figure 3.4	Vue microscopique des tissus de la feuille d'inule visqueuse	41
Figure 3.5	Vue par MEB d'une coupe transversale (a) et de la surface (b, c) de la feuille d'inule visqueuse.	42
Figure 3.6	Dittrichia viscosa - A) plante à fleurs entières (août), B) fleur, C) fruits mûrs, D) plantes adultes matures au fond et jeunes plantes non florifères au premier plan (octobre), E) nouvelles feuilles sur les vieilles brindilles au printemps (Avril)	43
Figure 4.1	Schéma descriptif de l'hydrodistillation	54
Figure 4.2	Schéma descriptif de l'entraînement à la vapeur d'eau	55
Figure 4.3	Schéma descriptif de l'hydrodiffusion	56
Figure 4.4	Principe d'extraction au CO ₂ supercritique	56
Figure 4.5	Schéma de la cavitation ultrasonore	59
Figure 4.6	Schéma d'une unité de Détente Instantanée Contrôlée (DIC) et son cycle de traitement	60
Figure 5.1	Conservation de la masse	73
Figure 6.1	Etapas de préparation de la matière première	78
Figure 6.2	Courbes des fréquences cumulées (PPQ)	80
Figure 6.3	Courbes des fréquences relatives	80
Figure 6.4	Dispositif de Dean et Stark pour la mesure du taux d'humidité	81
Figure 6.5	Dispositif de l'extraction solide-liquide utilisé.	84
Figure 6.6	Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.	86
Figure 6.7	Courbe d'étalonnage de la Quercetine pour le dosage des flavonoides.	87
Figure 6.8	Courbe d'étalonnage du DDPH	90
Figure 7.1.	Cinétique d'extraction des polyphénols d'inule visqueuse.	97
Figure 7.2	Représentation du plan composite en trois dimensions.	101
Figure 7.3	Graphique de surfaces de réponse montrant l'effet de l'interaction de la température et du rapport solide-liquide sur les polyphénols totaux (a), sur la teneur en flavonoïdes (b), sur le rendement des anthocyanes (c) et sur l'activité antiradicalaire mesurée par DPPH (d) sur les extraits aqueux d' inule visqueuse.	103
Figure 7.4	Diagramme de Pareto , mois de Juillet (a) et mois de Décembre 2014 (b).	111
Figure 7.5	Effets simples des paramètres opératoires (mois de Juillet (a) et de Décembre(b)).	112
Figure 7.6	Effets quadratiques des paramètres opératoires (mois de Juillet (a) et de Décembre(b)).	113
Figure 7.7	Superposition des courbes de réponses de la teneur en polyphénols totaux (TP) et l'activité anti-radicalaire (DPPH) en fonction de la température et du rapport solide-liquide déterminés pour les extraits d'inule visqueuse (mois de Juillet (a) et de Décembre (b)).	115
Figure 7.8	Quantité de polyphénols extraite en fonction de la concentration initiale du solvant en polyphénols totaux.	121
Figure 7.9	Quantité de polyphénols extraite en fonction du nombre d'extraction (C : charge, t : temps d'extraction).	122
Figure 7.10	Variation de la couleur des extraits aqueux récupérés en fonction de la nature du milieu d'extraction.	124

LISTE DES FIGURES (Suite)

Figure 7.11	Evolution du pH des extraits d'inule visqueuse en fonction du temps d'extraction.	125
Figure 7.12	Evolution du rendement en polyphénols totaux en fonction du temps d'extraction.	126
Figure 7.13	Evolution de l'activité antiradicalaire en fonction du temps d'extraction.	127
Figure 8.1	Variation du pourcentage d'inhibition (% I) en fonction de la concentration de l'extrait.	135
Figure 8.2	Variation du résidu DPPH (%) en fonction du rapport (mg AO/ g DPPH).	136
Figure 8.3	Variation du pouvoir antiradicalaire en fonction du temps d'extraction pour les mois de Juillet et de Décembre.	136
Figure 8.4	Variation du résidu DPPH (%) en fonction du rapport masse extrait (antioxydant) / masse de DPPH((mg AO/ g DPPH).	138
Figure 8.5	Variation de l'activité antiradicalaire en fonction du temps d'extraction pour les différents extraits bruts issus des différents milieux d'extraction.	139
Figure 8.6	Schéma de principe de l'extraction liquide-liquide	140
Figure 8.7	Schéma de principe de l'évaporateur rotatif	142
Figure 8.8	Variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'extrait purifié d'inule visqueuse (différents milieux d'extraction).	143
Figure 8.9	Variation du résidu DPPH (%) en fonction du rapport (mg AO/ g DPPH).	144
Figure 8.10	Variation de l'activité antiradicalaire des extraits purifiés en fonction du temps d'extraction (Différents milieux d'extraction).	144
Figure 9.1	Etude cinétique de l'extraction aqueuse des polyphénols d'inule visqueuse.	150
Figure 9.2	Dépendance entre la diffusivité effective et la température.	164
Figure 9.3	Dépendance entre le coefficient de transfert de masse et la température.	164
Figure 9.4	Dépendance entre le nombre de Biot massique et la température.	165
Figure 9.5	Simulation des données expérimentales par la première approche de modélisation (Optimum d'extraction).	171
Figure 9.6	Simulation des données expérimentales par les modèles théoriques (Optimum d'extraction).	172
Figure 9.7	Structure de base : neurone biologique (a) et neurone artificiel (b)	174
Figure 9.8	Réseau de neurones non bouclés (a) et réseau de neurones bouclés à deux entrées (b)	174
Figure 9.9	Coefficients de corrélation entre les paires de variables (Première série d'expériences).	177
Figure 9.10	Coefficients de corrélation entre les paires de variables (Deuxième série d'expériences).	187
Figure 9.11	Erreur quadratique moyenne en fonction du nombre d'Epochs pour les phases d'apprentissage, de validation et de test (Première série d'expériences).	180
Figure 9.12	Simulation des données expérimentales par le modèle RNA pour la base d'entraînement, de validation et de test (Première série d'expériences).	180
Figure 9.13	Erreur quadratique moyenne en fonction du nombre d'Epochs pour les phases d'apprentissage et de test (Deuxième série d'expériences).	181
Figure 9.14	Courbe de régression linéaire de rendement d'extraction de polyphénols pour toute la base de données (Deuxième série d'expériences).	181
Figure 9.15	Simulation des données expérimentales par le modèle RNA pour la base d'entraînement et de test (Deuxième série d'expériences).	182
Figure 10.1	Organigramme d'extraction et d'analyse des composés phénoliques.	189
Figure 10.2	Consommation d'eau distillée avant et après recyclage de l'eau distillée.	196
Figure 10.3	Consommation d'Acétate d'Ethyle avant et après recyclage.	199
Figure 10.4	Niveaux de valeur dans la gestion des déchets (échelle de Lansink)	200
Figure 10.5	Traitement et valorisation des résidus solides d'extraction végétale.	201
Figure 10.6	Consommation électrique et bilan carbone pour les processus de purification et de distillation sous vide avant et après recyclage de l'Acétate d'Ethyle.	203
Figure 10.7	Schéma d'extraction de composés phénoliques et valorisation des résidus.	205

SYMBOLES

SYMBOLE	SIGNIFICATION	UNITÉ
a	Rayon de la sphère	m
a _p	Surface spécifique	m ² /m ³
CE ₅₀	Concentration effective à 50%	mg AO/g DPPH
C _{eq}	Concentration d'équilibre	µg/mL
C _l	Concentration en phase liquide	µg/mL
C _s	Concentration en phase solide	µg/mL
C _{s0}	Concentration initiale en phase solide	µg/mL
C(t)	Concentration au temps t	µg/mL
C(∞)	Concentration à t → ∞	µg/mL
C _d [∞]	Concentration à l'équilibre de la partie diffusion	g/L
C _w [∞]	Concentration à l'équilibre de la partie lavage	g/L
C _l ^e	Concentration du liquide à l'équilibre	g/L
C _s ^e	Concentration du solide à l'équilibre	g/L
D	Coefficient de diffusion	m ² /s
D ₀	Constante d'Arrhenius	m ² .s
D _{eff}	Coefficient de diffusion effectif	m ² .s
D _s	Coefficient de diffusion dans la phase solide	m ² /s
DBO ₅	Demande biologique en oxygène	mg/L
DCO	Demande chimique en oxygène	mg/L
E _a	Energie d'activation	J/mole
H	Hydromodule (volume de solvant/masse de substrat)	L/g
IC ₅₀	Concentration inhibitrice à 50%	µg/mL
K	Coefficient de transfert de masse	m/s
K _D	Coefficient de distribution (de partage) =C soluté (solide)/C soluté (liquide)	/
K _e	Coefficient de transfert de masse externe	m/min
k	Constante de vitesse	s ⁻¹
k ₁	Constante de vitesse de premier ordre pour la partie rapide	min ⁻¹
k ₂	Constante de vitesse de premier ordre de la partie lente	min ⁻¹
k _d	Constante de vitesse de diffusion	s ⁻¹
K _e . a _p	Coefficient de transfert de masse volumétrique	min ⁻¹
M _s	Masse du solide	g
M _l	Masse du liquide	g
M(t)	Masse au temps t	g
M(∞)	Masse à t → ∞	g
MES	Matière en suspension	mg/L
NGL	Azote global	mg/L
NTK	Azote Kjeldahl	mg/L
P _T	Phosphore total	mg/L
R	Constante des gaz parfaits	J/K.mole
R _{w0}	Vitesse initiale d'extraction pour le modèle lavage/diffusion	s
S/L	Rapport solide sur liquide	mg/L
T	Température	°C ou K
t	Temps	min ou s
t _{1/2}	Temps de demi-vie	s
t _{CE50}	Temps pour atteindre l'équilibre à CE ₅₀	min
ω	Vitesse d'agitation	tr/min

ABREVIATIONS

A	Absorbance
AAR	Acitivité antiradicalaire
A.As	Acide Ascorbique
ACV	Analyse du cycle de vie
A.G	Acide Gallique
AN	Anthocyanes
AO	Antioxydant
ASE	Accelerated solvent extraction
b	Constante adimensionnelle
BHT	Butylhydroxytoluène
Cal	Valeur calculée
DEC	Demande d'énergie cumulative
DPPH	2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle
EAG	Equivalent d'Acide Gallique
EHS	Environnement Health Safety
EM	Equivalent de Malvidine
EOA	Espèces Oxygénées Activées
EQ	Equivalent de Quercétine
EVC	Equivalent de Vitamine C
Exp	Expérience
F	Fraction de soluté facilement libérée
(1-F)	Fraction de soluté difficilement libérée
FLA	Flavonoïdes
FSC	Fluide supercritique
F_i	Fréquence cumulée des valeurs prises par la variable X qui sont inférieures ou égales à x_i
F_i/n	Fréquence relative cumulée, c'est la proportion des valeurs prises par la variable X qui sont inférieures ou égales à x_i
f_i	Nombre d'unités (fréquence absolue) présentant la valeur x_i tel que $f_i = \frac{x_i}{n}$
f_i/n	Fréquence relative de x_i en % : le quotient de cet effectif par celui de la population.
L	Nombre de Biot pour le transfert de masse
MS	Matière sèche
MEB	Microscope électronique à balayage.
HPLC	High performance liquid chromatography
I	Pourcentage d'ihnibition
IEAR	Indice d'efficacité antiradicalaire
n	Taille de l'échantillon
NRMSD	Normalized root mean square deviation = $\frac{RMSE}{(y_{cal\ max})}$
P	Pression
PLE	Pressured liquid extraction
P	Pression
PT	Polyphénols totaux
R^2	Coefficient de détermination
Rdt	Rendement d'extraction
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RMSE	Root mean square error = $[\sum_{i=1}^n (y_{cal} - y_{exp})^2]^{0.5}$
SOD	Superoxyde dismutase
SSE	Somme quadratique des erreurs = $[\sum_{i=1}^n (y_{cal} - y_{exp})^2]$
tr/min	Tours par minute
Tampon pH= 4	Solution tampon pH=4
Tampon pH=10	Solution tampon pH=10
X	Variable statistique (caractère)
x	Distance dans la direction de diffusion
x_i	Modalités : valeurs possibles prises par la variable statistique X

ABREVIATIONS (suite)

y_{cal}	Rendement calculé
y_{exp}	Rendement expérimental
μS	microSiemens
$\phi.aq$	Phase aqueuse
$\phi.org$	Phase organique
δr	Ecart type résiduel = $\sqrt{\frac{(y_{cal} - y_{exp})^2}{n-k}}$ avec n: nombre de test et k: nombre des coefficients du modèle.

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

Introduction générale :

L'Algérie, par la richesse et la diversité de sa flore, constitue un véritable réservoir phylogénétique, avec environ 4000 espèces et sous-espèces de plantes vasculaires [1]. Cette richesse représente pour le pays un marché à enjeux socio-économiques énormes au vu des potentialités phytogénétiques encore en friche. En effet, la flore médicinale algérienne reste méconnue jusqu'à nos jours, car sur les quelques milliers d'espèces végétales, seules 146 sont dénombrées comme médicinales [2].

En 2011, environ 33 stères de plantes aromatiques de différentes espèces (romarin, myrte, etc.) ont été extraites en Algérie, alors que la production pour l'année 2010 était de 35.5 stères et pour l'année 2009 de 23 stères. Ces chiffres en apparence assez faibles au regard du potentiel de l'Algérie semblent être confirmés par des données concernant les importations et exportations algériennes. En effet, l'Algérie est absente de la scène internationale des échanges de plantes aromatiques et médicinales. Elle reste à des taux insignifiants sur le marché mondial de 0,0007% [3].

Les plantes médicinales représentent autant de gisements non encore explorés de molécules biologiques (métabolites secondaires) qui peuvent être à l'origine d'écoproduits. L'éco-extraction des huiles végétales et extraits de plantes et ses applications dans le domaine de la cosmétologie, de la médecine, de l'agro-alimentaire constituent la nouvelle mouvance vers ce qu'on l'appelle les menus bio respectueux de l'environnement.

C'est dans ce contexte que la présente étude vient définir un certain nombre d'objectifs et poser certaines problématiques liées à l'extraction des composés phénoliques d'inule visqueuse (plante vivace très abondante en Algérie aux vertus thérapeutiques très impressionnantes) tout en tentant de trouver des solutions respectant les enjeux environnementaux et garantissant les performances économiques en fonction des moyens scientifiques disponibles.

Ce présent travail s'articule autour de deux parties :

- La première partie, composée de 5 chapitres, consiste en une synthèse bibliographique qui donne un aperçu sur les différentes notions abordées dans ce travail. Elle résume l'état actuel de compréhension et de connaissance du sujet. Cette étude montre ainsi l'intérêt de valoriser les principes actifs d'inule visqueuse sur la base des résultats de recherches scientifiques récentes. Ces travaux mettent en relief non seulement certaines données de la médecine traditionnelle relatives à cette plante mais aussi ses propriétés antioxydantes et sa teneur élevée en composés phénoliques [4,5].

Introduction générale

Connue depuis le début des années 1990 [6], la chimie verte est une prise en compte multifactorielle qui exige une innovation scientifique et un développement de technologies modernes pour assurer une efficacité économique tout en respectant l'environnement et en restant mondialement compétitive. Basée sur ces considérations, la deuxième partie du travail se décline en cinq chapitres :

- Le premier chapitre présente les matériels et les protocoles utilisés durant nos travaux de thèse ainsi que les techniques d'analyse et d'identification employées.

- Le deuxième chapitre a pour objectif d'optimiser l'extraction des composés phénoliques d'inule visqueuse en appliquant certains principes de l'écoextraction : utilisation de matière première renouvelable (inule visqueuse), de solvant vert (eau), économie d'énergie (températures d'extraction modérées), diminution des résidus liquides (recyclage et valorisation) et des résidus solides (utilisation d'une quantité faible de matière première). L'influence du cycle végétatif de la plante sur la teneur en différents composés phénoliques, sur l'optimisation des paramètres technologiques ainsi que sur les caractéristiques antioxydantes des extraits obtenus est également examinée.

Après avoir optimisé les trois paramètres clés dans l'extraction végétale à savoir la température, le rapport solide/ liquide et la vitesse d'agitation, nous nous sommes penchées sur l'étude de l'impact de la nature du milieu d'extraction (pH) sur les teneurs en composés phénoliques, sur le pouvoir antiradicalaire, sur la cinétique d'extraction ainsi sur la composition chimique des extraits récupérés.

- Le troisième chapitre, quant à lui, est consacré à la purification et à la détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits obtenus tout en les comparant avec les performances des antioxydants standards.

- Le quatrième chapitre présente les premières données sur la cinétique d'extraction aqueuse des composés phénoliques d'inule visqueuse et la modélisation du phénomène de transfert de matière mis en jeu. Trois approches ont été appliquées : la modélisation par des modèles cinétiques et/ou l'application de la loi de Fick, la modélisation théorique et la modélisation par les réseaux de neurones artificiels.

Dans le cadre d'une amélioration continue, le dernier chapitre est dédié au management du procédé d'extraction solide-liquide des composés phénoliques d'inule visqueuse en déterminant, en quantifiant et en remédiant les aspects environnementaux à impacts significatifs.

Une conclusion générale vient finaliser l'ensemble de ce travail et des perspectives de recherche envisageables sont proposées.

PARTIE 1:
REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Introduction

La synthèse bibliographique permet de définir les différents termes techniques et phénomènes liés à l'extraction des substrats végétaux.

Cette première partie se compose de trois sections :

Dans la première section, nous traiterons des antioxydants, particulièrement les composés phénoliques, leur intérêt, leurs mécanismes d'action et leurs méthodes de mesure. La fiche technique de l'inule visqueuse, plante qui fait l'objet de ce travail est ainsi exposée.

Dans la deuxième section, nous donnerons un aperçu sur les différents modes d'extraction qu'ils soient conventionnels ou innovants avec une attention particulière pour l'extraction solide-liquide. Un recensement des travaux, en relation avec le sujet, issus de publications récentes sera aussi établi. Une esquisse sur l'application de la chimie verte à l'extraction des composés phénoliques y sera donnée.

Enfin, la dernière section de la synthèse bibliographique sera consacrée à l'étude du phénomène de transfert de matière.

CHAPITRE 1 :

Les Antioxydants

Chapitre 1 : Les antioxydants

1.1. Introduction

Radicaux libres, espèces oxygénées activées (EOA), stress oxydant et antioxydants sont devenus des termes familiers tant dans le monde médical que dans le grand public. La seule année 2003 a vu plus de 45000 publications consacrées aux antioxydants [7].

Mais de quoi s'agit-il exactement ?

1.2. Petite histoire

Au milieu des années 50, parmi les premiers, Gerschman et al.(1954) ont montré que l'oxygène, molécule pourtant indispensable à la vie, présente également une toxicité pour l'organisme [8]. Inspiré par ces travaux, Harman (1956) proposa alors la «free radical theory of aging» à savoir que via la production de radicaux libres, l'oxygène est à l'origine du processus de vieillissement cellulaire [9]. En 1969, date clé dans l'histoire du stress oxydant, les Américains McCord et Fridovich ont isolé, à partir de globules rouges humains, un système enzymatique antioxydant : La superoxyde dismutase (SOD) qui élimine le radical libre anion superoxyde produit par réduction univalente de l'oxygène. Cette découverte sera le point de départ, dans le monde entier, de nombreuses recherches sur le stress oxydant et les antioxydants [10].

1.3. Définitions

1.3.1. Les radicaux libres (R.L)

Un radical libre (RL) est constitué par tout atome, groupe d'atomes ou molécules où au moins un électron non apparié occupe une orbitale externe. Le radical se trouve doté d'une réactivité particulière et peut ainsi réagir avec d'autres atomes ou molécules et se comporter, selon le cas, comme un oxydant ou comme un réducteur, afin d'apparier son électron célibataire. Il constitue, avec les dérivés oxygénés non radicalaires, une grande famille appelée espèces oxygénées activées (EOA) [11]. Celles ci peuvent se former quand l'oxygène interagit avec certaines molécules selon des mécanismes enzymatiques et non enzymatiques.

1.3.2. Le stress oxydatif

En 1997, Sies a défini la notion de stress oxydant comme l'incapacité de l'organisme à se défendre contre l'agression des espèces oxygénées activées (EOA), suite à un déséquilibre lié soit à une production accrue d'EOA (force d'attaque), soit à une diminution de la capacité de défense antioxydante (force de défense), soit aux deux [12, 13].

L'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV..., augmente la formation des radicaux libres [14, 15,16]. Une alimentation pauvre en fruits et légumes, où se trouve la majeure partie des antioxydants nécessaires, favorise une

Chapitre 1 : Les antioxydants

baisse de la capacité antioxydante. Lorsque les radicaux libres nocifs ne sont pas neutralisés par le système de défense antioxydant de l'organisme, il y a excès de radicaux nocifs et des dommages peuvent se produire [15,17].

1.3.3. Les antioxydants

Un antioxydant est une espèce chimique plus ou moins complexe diminuant le stress oxydant au sein de l'organisme. Un antioxydant peut donc prévenir la synthèse de radicaux libres en inhibant l'initiation des chaînes réactionnelles ou désactiver directement les espèces réactives de l'oxygène (ROS: Reactive Oxygen Species). Les antioxydants peuvent être classés selon leurs modes d'actions : systèmes enzymatiques, inhibiteurs d'enzymes oxydantes, chélateurs de métaux et piègeurs de radicaux libres [18].

Un bon antioxydant doit présenter plusieurs propriétés, notamment [19]:

- ✓ Une efficacité à faible concentration,
- ✓ Une compatibilité physique et chimique avec le substrat qu'il est censé protéger,
- ✓ Une absence de toxicité.

a. Classification des antioxydants

Cette classification peut se faire d'une part par rapport à leurs mécanismes d'action et d'autre part suivant leurs natures chimiques dans les aliments.

a.1. Par rapport à leurs mécanismes d'action

La réaction d'oxydation peut être retardée:

- soit en interceptant les radicaux libres responsables de la réaction en chaîne,
- soit en évitant la décomposition des hydroperoxydes dans les radicaux libres.

Ces deux options fournissent la base de la classification des antioxydants sous forme primaire ou secondaire selon leur mécanisme d'action [20].

a.1.1. Les antioxydants primaires ou radicalaires ou vrais

Ces antioxydants permettent l'interruption de la chaîne autocatalytique ci-dessous:



La molécule AH est antioxydante si le radical formé A• est plus stable. La stabilité du radical A• peut s'expliquer par sa conversion en composés non radicalaires :



a.1.2. Les antioxydants secondaires ou préventifs

Ces antioxydants assurent l'inhibition de la production des radicaux libres. Ce sont des substances décomposant les hydroperoxydes en alcool, des thiols (glutathion, acides aminés soufrés) ou les disulfures, des protecteurs vis-à-vis des UV, comme les carotènes, des

Chapitre 1 : Les antioxydants

chélatants des métaux promoteurs d'oxydation type fer et cuivre, comme l'acide citrique et les lécithines ou enfin des séquestrants d'oxygène comme l'acide ascorbique.

a.2. Par rapport à leurs natures chimiques dans les aliments

Dans cette classification, nous retrouvons les antioxydants naturels, les antioxydants synthétiques et les antioxydants synergiques [21].

a.2.1. Les antioxydants naturels

Ils sont présents dans presque toutes les plantes, dans tous les micro-organismes, dans les champignons et même dans les tissus animaux. Le groupe le plus important d'antioxydants naturels comprend la vitamine E (tocophérol), les flavonoïdes et autres composés végétaux [22].

a.2.2. Les antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques sont généralement préparés en laboratoire et principalement à partir de composants chimiques. Il s'agit notamment [22] :

- du butylhydroxyl anisole (BHA),
- du butylhydroxytoluène (BHT),
- des gallates de propyle, d'octyle et de dodécyle,
- de l'agent chélatant des métaux (EDTA),
- du butylhydroquinone tertiaire (BQHT),
- de l'acide nordihydro-guarétique (NDGA).

Il y a lieu de signaler que dans l'industrie alimentaire, l'ajout d'antioxydants naturels dans les aliments est une technique complètement nouvelle. Depuis à peu près 1980, les antioxydants naturels sont apparus comme alternative aux antioxydants synthétiques. Ils sont aujourd'hui généralement préférés par les consommateurs. Toutefois, le fait de trouver communément une substance dans un aliment ne constitue pas une garantie de son absence totale de toxicité. Les antioxydants synthétiques ont été testés quant à leurs effets carcinogènes ou mutagènes mais de nombreux constituants naturels contenus dans les aliments n'ont pas encore été testés.

a.2.3. Les antioxydants synergiques

Les antioxydants synergiques sont des substances qui ne sont guère actives en tant qu'antioxydants et dont les propriétés apparaissent surtout en présence des autres antioxydants. Il en est ainsi des lécithines, des acides citrique et tartrique, des acides aminés, de certains flavonoïdes. Leurs propriétés peuvent s'expliquer par un effet chélatant de métaux, comme le fer ou le cuivre, dont on connaît bien l'effet pro-oxydant à faible dose. Cependant, ce n'est peut-être pas la seule explication car plusieurs de ces produits sont d'assez mauvais chélatants. Certains produits ont un effet inhibiteur de la décomposition des hydroperoxydes,

Chapitre 1 : Les antioxydants

et d'autres semblent régénérer des antioxydants, comme les tocophérols ou les dérivés de l'acide ascorbique à partir de leurs formes oxydées [22]

1.4. Mécanismes d'oxydation

Les mécanismes d'oxydation des composés insaturés biologiques (acides gras, caroténoïdes, polyphénols...) sont souvent des réactions radicalaires avec l'oxygène moléculaire [23,24] et présentent trois phases principales :

- La phase de **déclenchement** où se forme un premier radical libre (figure 1.1). L'arrachement du proton est facilité tant par la chaleur (agitation moléculaire) que par les rayonnements ou les catalyseurs (métaux tels que : Cu, Fe, Co, Mn, Ni...),

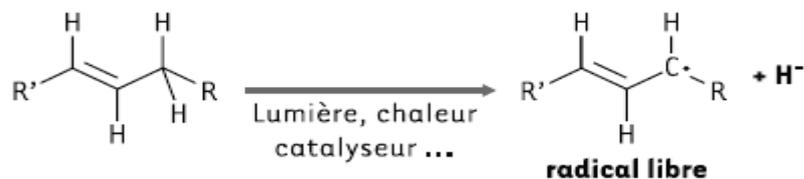


Figure 1.1: Phase de déclenchement.

- La phase de **propagation** où l'oxygène fixé donne un radical peroxy qui réagit avec une autre molécule ce qui conduit à un néoradical libre et à un hydroperoxyde (figure 1.2). Les hydroperoxydes instables se scindent en composés plus courts.

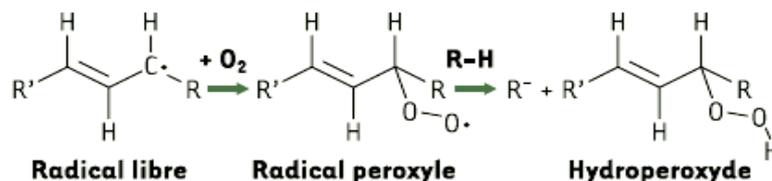


Figure 1.2: Phase de propagation.

- La phase de **terminaison** où se recombinent différents radicaux formés. Globalement, ce processus conduit à des hydrocarbures, à des aldéhydes, à des cétones, à des acides, à des esters, à des peracides, à des peroxydes mais aussi à des produits de polymérisation.

1.5. Evaluation de l'activité antioxydante

Depuis ces dernières décennies, les tests d'activité antioxydante ont été largement développés pour évaluer l'efficacité de nouveaux composés. Les nombreuses méthodologies disponibles permettent d'évaluer les différents aspects physico-chimiques du potentiel antioxydant dans différentes conditions. Les plus répandues [18, 24, 25] sont :

- Le test TEAC (Trolox Equivalent Antioxydant Capacity) ou test (ABTS),
- Le test PPM (PhosPhoMolybdate),
- La Chélation du fer,

Chapitre 1 : Les antioxydants

- Le Test au B-carotène,
- La Méthode de Macro,
- Le test DPPH (test adopté dans la partie expérimentale).

Le DPPH• (ou 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un radical stable à température ambiante et de couleur bleue caractéristique. Sa stabilité provient de la haute délocalisation des électrons π le long de la molécule. Il est un des premiers radicaux à avoir été utilisé pour étudier la relation structure/activité antioxydante des composés phénoliques [26,27].

Il possède, dans sa structure, un électron non apparié sur un atome du pont azote-azote (figure 1.3). Sa particularité provient de la modification de ses propriétés d'absorption UV/Visible selon son état : la forme réduite absorbe à 515-518 nm alors que sa forme oxydée ne présente pas de pic d'absorption.

L'efficacité d'un antioxydant peut être mesurée par sa capacité à réduire le radical. Ceci s'observait historiquement par le changement de couleur allant du bleu-violet (forme oxydée) au jaune (forme réduite) (figure 1.3).

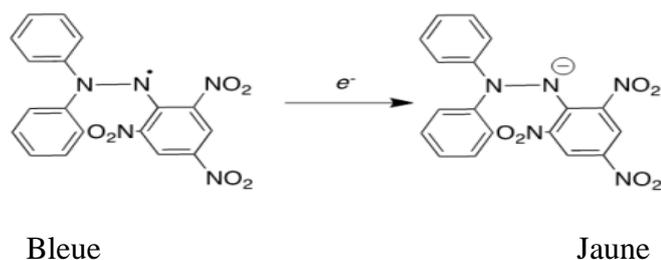


Figure 1.3: Modification du DPPH• lors du transfert électronique [28].

Le piégeage des radicaux libres par des antioxydants peut être tributaire de deux types de mécanismes. D'une part, le transfert d'atome d'hydrogène du groupement hydroxyle présenterait une cinétique rapide comme dans le cas de certains acides et dérivés phénoliques et d'autre part, le transfert d'électron aurait une cinétique lente comme montré dans le cas des dérivés glycosylés et des anthocyanes [29]. Cette discrimination de la cinétique en fonction du type de piégeage reste néanmoins à considérer avec prudence. En effet, il a été montré que les cinétiques de transfert d'électron sont généralement plus rapides que celles d'un transfert d'atome [30]. Il est important de noter, que dans le cas des polyphénols, la capacité à piéger les radicaux libres est tributaire des conditions opératoires.

Plusieurs facteurs peuvent influencer le potentiel antioxydant et la cinétique de réduction, comme le temps, le rapport Antioxydant/DPPH•, le type de solvants, le pH et le profil phénolique en particulier.

Chapitre 1 : Les antioxydants

1.6. Utilisation des antioxydants

De nos jours, les antioxydants sont largement employés dans divers domaines de l'industrie moderne et en médecine.

- ❖ Dans l'industrie chimique: pour éviter le durcissement du caoutchouc ou en métallurgie, pour protéger les métaux de l'oxydation [31],
- ❖ Dans l'industrie pétrochimique: comme adjuvants [32],
- ❖ Dans l'industrie agro-alimentaire: comme additifs dans les matières grasses et les huiles pour empêcher ou retarder l'altération des aliments [15, 33, 34]
- ❖ Dans les industries pharmaceutique et cosmétique: comme inhibiteurs d'oxydation [35].
- ❖ En médecine: La présence des antioxydants contribue à la réduction des pathologies en neutralisant les radicaux libres qui, en attaquant les membranes externes vulnérables des cellules saines, provoquent la dégénérescence cellulaire et la mort [36].

La neutralisation des radicaux libres par les antioxydants se traduit par :

- le combat contre l'effet nocif des radicaux libres,
- la stimulation immunitaire,
- la prévention contre plusieurs formes de cancers,
- le retardement du processus de vieillissement,
- la protection contre les maladies cardio-vasculaires et les allergies

1.7. Conclusion

L'homme a dû faire face à son environnement et a appris à utiliser les ressources naturelles pour subvenir à ses besoins nutritionnels afin d'assurer sa survie et la pérennité de son espèce. Apprendre à reconnaître les plantes à caractère bénéfique pour l'organisme et à se méfier de celles ayant un effet néfaste est une nécessité naturelle, très développée par l'homme mais également par d'autres espèces animales. Grâce à des études scientifiques, les substances contenues dans les plantes ont pu être étudiées, leurs structures moléculaires analysées, leurs propriétés sur l'organisme humain identifiées. En outre, les avancées de la médecine ont permis de mieux comprendre la physiologie du corps humain et les réactions chimiques permettant son bon fonctionnement. Dès lors, bon nombre de pathologies ont vu leurs mécanismes de survenue identifiés. L'oxydation, si elle est nécessaire à la vie, peut aussi avoir un effet délétère : le stress oxydant peut causer de sévères dommages cellulaires. Pour se protéger de ce type d'agression, notre organisme produit ou fait appel à une source exogène d'antioxydants [18]. A ce titre, les polyphénols sont un véritable bouclier anti-maladies. Les composés phénoliques possèdent des propriétés antioxydantes très efficaces pour contrer les espèces oxygénées activées.

CHAPITRE 2 :

Les Polyphénols

Chapitre 2 : Les polyphénols

2. Les composés phénoliques

2.1. Introduction

Une des originalités majeures des végétaux réside dans leur capacité à reproduire des substances naturelles très diversifiées [19]. En effet, à côté des métabolites primaires classiques (glucides, protides, lipides, acides nucléiques), ils accumulent fréquemment des métabolites dits « secondaires » qui appartiennent à des groupes chimiques très variés tels que les alcaloïdes, les terpènes, les composés phénoliques, etc. [17, 37].

2.2. Définition

Les composés phénoliques, nommés aussi phytomicronutriments, regroupent une grande variété de substances (environ 8000 composés) que l'on retrouve dans tous les tissus des plantes [38]. Ils constituent fréquemment les métabolites secondaires les plus abondants chez les fruits et les plantes [39]. Leur présence a été rapportée dans plusieurs fruits et légumes, herbes et épices, produits de l'érable, plantes médicinales et boissons telles que le thé et le café [40, 41,42]

Du point de vue chimique, le terme polyphénol est attribué au composé organique naturel possédant au moins un anneau aromatique avec un ou plusieurs groupements hydroxyles rattachés à cette structure. Ces groupements fonctionnels peuvent toutefois être substitués par des esters, des méthyl-esters, des glycosides ou autres groupements [43].

Les polyphénols sont des composés hydrosolubles, de poids moléculaire compris entre 500 et 3000 Dalton. Outre les propriétés habituelles des phénols, ils possèdent la capacité de précipiter les alcaloïdes, la gélatine et autres protéines [44, 45].

2.3. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques, largement distribués dans le règne végétal et provenant de sous produits du métabolisme des plantes, peuvent s'accumuler comme produits de deux sentiers métaboliques distincts: le sentier acétate (figure 2.1 a) et le sentier shikimate (figure 2.1 b). De plus, par un sentier intermédiaire, ils peuvent produire des flavonoïdes (figure 2.1 c), groupe le plus représentatif des composés phénoliques.

Chapitre 2 : Les polyphénols

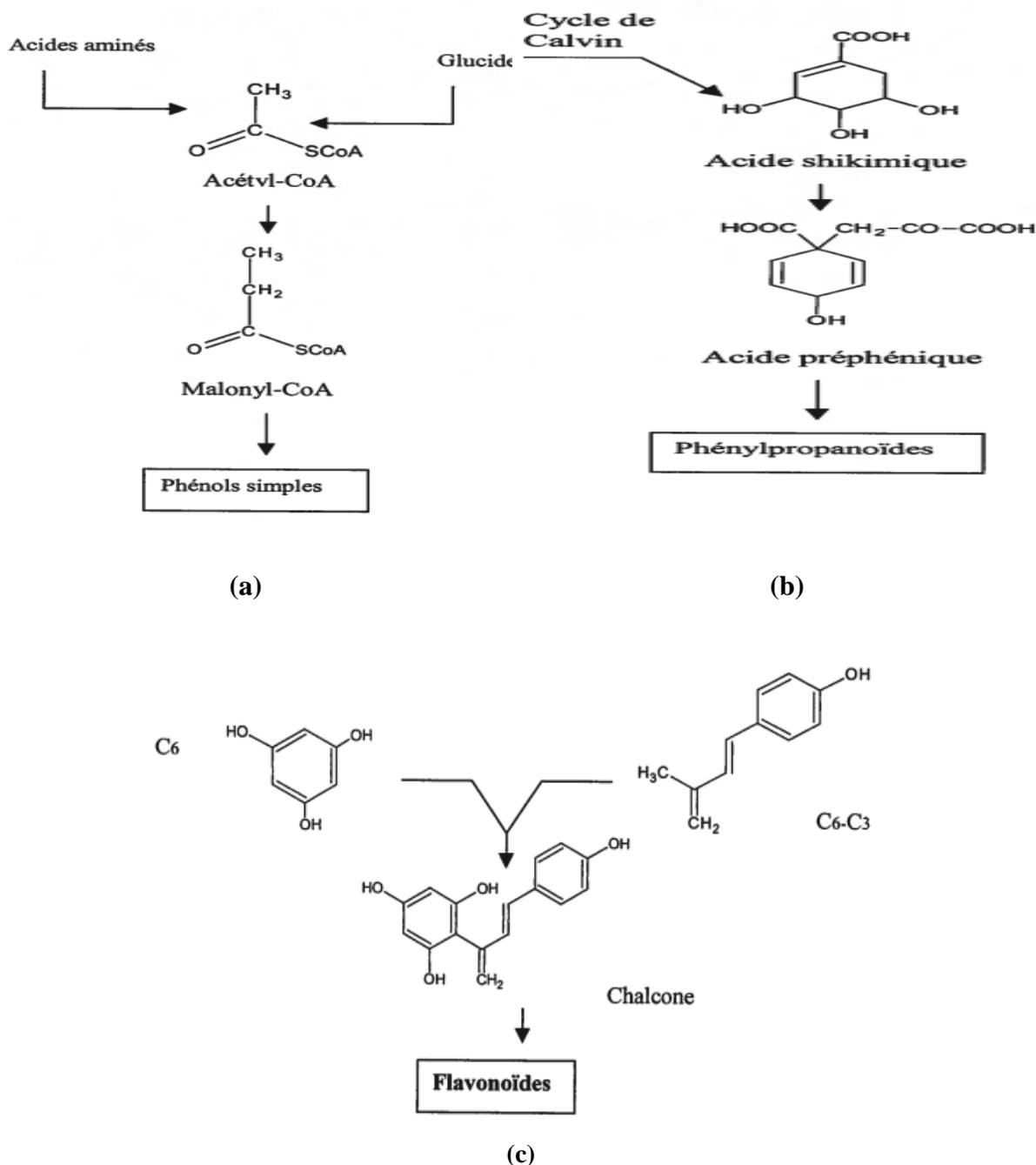


Figure 2.1: Sentiers de biosynthèse des polyphénols: (a) sentier acétate, (b) sentier shikimate, (c) sentier de formation des flavonoïdes [43, 44].

2.4. Classification des polyphénols

Dans cette famille de molécules, se trouvent de nombreuses substances qui se différencient d'abord par la complexité du squelette de base (allant d'un simple C₆ à des formes très polymérisées) puis par le degré de modification de ce squelette (degré d'oxydation, d'hydroxylation, de méthylation...) et enfin par les liaisons possibles de ces molécules de base avec d'autres molécules (glucides, lipides, protéines, autres métabolites secondaires pouvant être ou non des composés phénoliques) [19].

Chapitre 2 : Les polyphénols

2.4.1. Les non flavonoïdes

a. Les acides phénols

Les acides phénols sont divisés en deux classes différentes: les acides hydroxybenzoïques et les acides hydroxycinnamiques [47] :

a.1. Les acides hydroxybenzoïques

Les acides phénols en C₆-C₁, dérivés hydroxylés de l'acide benzoïque sont fréquemment présents aussi bien sous forme libre que combinée à l'état d'esters ou d'hétérosides [47,48].

a.2. Les acides hydroxycinnamiques

Les acides phénols dérivés de l'acide cinnamique sont souvent estérifiés. Ces composés répondent à une représentation structurale de type (C₆-C₃). Les plus courants sont l'acide cinnamique, l'acide caféïque, l'acide férulique, l'acide *p*-coumarique et l'acide sinaptique [39,48]. Ils sont à l'origine des voies de biosynthèse de nombreuses substances telles que les lignines, les flavonoïdes et les stilbènes.

Les acides phénols sont solubles dans les solvants organiques polaires, dans les solutions d'hydroxyde de sodium et de carbonate de sodium ainsi que dans les hydrogénocarbonates. Ils sont extractibles par les solvants organiques en milieu légèrement acide. Les formes hétérosidiques de ces composés phénoliques sont solubles dans l'eau [47].

b. Les tannins

Les tannins sont des macromolécules de masse moléculaire variant de 500 à 3000 Dalton. Ils possèdent la propriété de précipiter les alcaloïdes, la gélatine, les glucides, les enzymes digestives, les métaux lourds et d'autres protéines. Les tannins sont caractérisés par une saveur astringente et sont trouvés dans toutes les parties de la plante : l'écorce, le bois, les feuilles, les fruits et les racines [49]. On distingue deux groupes de tannins différents par leur structure et par leur origine biogénétique.

b.1. Les tannins hydrolysables

Ce sont des phénols liés à un résidu sucré par un lien ester. Le sucre est très généralement le D-glucose et l'acide phénol est soit l'Acide Gallique dans le cas des gallotannins soit l'Acide Ellagique dans le cas des tannins classiquement dénommés ellagitannins (figure 2.2).

Chapitre 2 : Les polyphénols

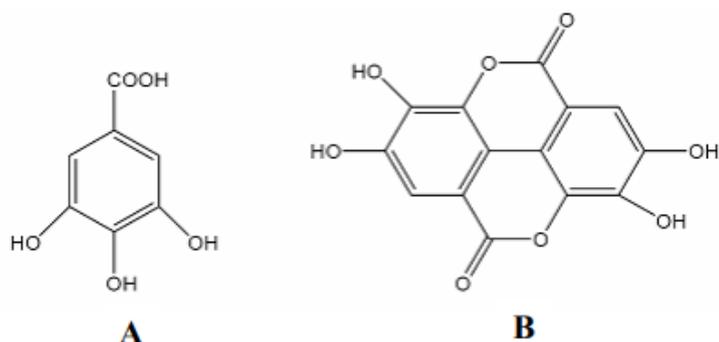


Figure 2.2: Structure chimique des Acides Gallique (A) et Ellagique (B) [50,51].

b.2. Les tannins condensés

Ce sont des composés phénoliques hétérogènes. Ils se trouvent sous forme d'oligomères ou de polymères de flavanes, flavan-3-ols, 5 desoxy-3-flavonols et flavan-3,4-diols. Les polymères donnent une structure hérissée de groupes hydroxyle (OH) phénoliques capables de former des liaisons stables avec les protéines [47,52]. Les tannins se dissolvent dans l'eau sous forme de solutions colloïdales mais leurs solubilités varient selon le degré de polymérisation (elles diminuent lorsque celui-ci augmente). Ils sont solubles dans les alcools et l'acétone.

c. Les phénylpropanoïdes

Ils dérivent de l'acide aminé phénylalanine et peuvent contenir un ou plusieurs résidus en C₆-C₃ [47]. Parmi les phénylpropanoïdes, nous trouvons :

c.1. Les coumarines

Elles tirent leur nom d'un arbre de la famille des fabacées (papilionacées ou légumineuses), le coumarou, encore appelé gaïac de Cayenne (*dipteryx odorata*) qui pousse en Amérique centrale ou en Amérique du sud et dont la graine odorante appelée fève de tonka en contient [47]. Les coumarines présentent toutes une structure composée d'un cycle benzène et d'un noyau lactone (benzo- α -pyrone) formant alors un noyau coumarine simple. À ce noyau peuvent s'ajouter différents groupements chimiques à l'origine de quatre types de coumarines différentes rencontrées chez les plantes supérieures [53]:

- Les coumarines simples (benzo- α -pyrones),
- Les furocoumarines (furobenzo- α -pyrones) qui résultent de la fusion d'un cycle furane en position 6 et 7 (furocoumarines linéaires) ou en position 7 et 8 (furocoumarines angulaires) sur un noyau coumarine simple,
- Les pyranocoumarines (benzodipyrane-2-ones) qui résultent de la fusion d'un cycle pyrane sur un noyau coumarine simple, formant alors aussi des pyranocoumarines linéaires et angulaires,

Chapitre 2 : Les polyphénols

- Les phénylcoumarines (benzo-benzo-pyrones), résultant de la fusion d'un cycle phényl sur un noyau coumarine simple, sont issues du métabolisme de l'isoflavone, contrairement aux autres coumarines qui dérivent toutes de la même voie de biosynthèse. La grande diversité des coumarines résulte dans l'ajout de groupements chimiques à ces quatre structures de base, telles que des hydroxylations, des méthoxylations, des prénylations, des géranylations ou encore des époxydations.

c.2. Les phénylpropènes

Ces composés répondent à une représentation structurale de type (C_6-C_3) . Ils contribuent à la saveur parfumée et à l'odeur des plantes [47].

d. Les lignanes

Ces composés répondent à une représentation structurale du type $(C_6-C_3)_2$. Ce sont des molécules qui résultent de l'établissement d'une liaison entre deux carbones de la chaîne latérale de deux acides hydroxycinnamiques [47]. Ils interviennent dans les mécanismes de défense de la plante [46]. Les lignanes se trouvent essentiellement dans les graines d'oléagineux.

e. Les lignines

Ces composés répondent à une représentation de type $(C_6-C_3)_n$. Ces composés, de haut poids moléculaire, contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales. Ce sont des polymères tridimensionnels résultant de la condensation de trois alcools phénylpropéniques [54].

f. Les xanthones

C'est une famille constituée de composés polyphénoliques généralement isolés dans les plantes supérieures. Ils répondent à une structure de base en $C_6-C_1-C_6$ [47].

g. Les stilbènes

Les membres de cette famille possèdent une structure $C_6-C_2-C_6$ comme les flavonoïdes. Ce sont des phytoalexines, composés produits par les plantes en réponse à l'attaque par les microbes pathogènes fongiques, bactériens et viraux. Les sources principales des stilbènes sont les raisins, les vins, le soja et les arachides [55]. Parmi ces composés, nous trouvons le resveratrol qui est un anticancéreux présent dans certaines plantes médicinales [47, 56].

h. Les quinones

Ce sont des composés oxygénés qui correspondent à l'oxydation de dérivés aromatiques avec deux substitutions cétoniques. Elles sont caractérisées par un motif 1,4-dicéto cyclohexa-2,5-diéniq (para-quinones) ou éventuellement, par un motif 1,2-dicéto cyclohexa-3,5-diéniq

Chapitre 2 : Les polyphénols

(ortho-quinones) [50]. Elles sont ubiquitaires dans la nature, principalement dans le règne végétal et sont fortement réactives [50, 57].

2.4.2. Les flavonoïdes

Quatre mille flavonoïdes sont recensés dans le règne végétal. Ce sont des substances polyphénoliques de faible poids moléculaire qui possèdent le même squelette de base de quinze carbones ($C_6-C_3-C_6$). La structure générique des flavonoïdes et le système de numérotation utilisé pour distinguer les positions des carbones autour de la molécule sont illustrés par la figure 2.3.

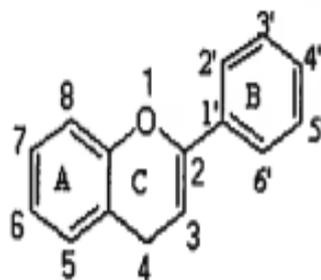


Figure 2.3: Structure du squelette de base des flavonoïdes [43, 47].

Les trois anneaux phénoliques sont nommés anneaux A, B et C. Les activités biochimiques des flavonoïdes et de leurs métabolites dépendent de leurs structures chimiques et de l'orientation relative des différents groupes sur la molécule [43, 56, 58, 59].

Dans la plante, ils sont très souvent liés aux sucres, on parle alors d'hétérosides constitués d'une partie phénolique aglycone ou génine associée à un sucre [47,60]. Deux types de structures ont été relevés : celui des flavonoïdes au sens strict dont la structure porte le noyau aromatique B en position 2 sur la chaîne C₂ et celui des isoflavonoïdes dont le noyau aromatique B est en position 3 sur la chaîne C₂ [58].

a. Les flavonoïdes au sens strict

Dans ce groupe, on distingue les chalcones, les aurones, les flavones, les flavanes, les flavanones, les flavanols, les flavonols et les flavanonols [54]. Les flavonoïdes lipophiles des tissus superficiels des feuilles (ou des frondes) sont directement extraits par des solvants moyennement polaires (Dichlorométhane). Les hétérosides peuvent être extraits, le plus souvent à chaud, par de l'acétone ou par des alcools (éthanol, méthanol) additionnés [47].

Chapitre 2 : Les polyphénols

b. Les flavonoïdes au sens large

Dans ce groupe, on distingue les flavanols, les isoflavonoïdes et les anthocyanes. Les anthocyanosides sont solubles dans l'eau et les alcools, insolubles dans les solvants organiques apolaires, instables en milieu neutre ou alcalin.

2.5. Propriétés des polyphénols

Les propriétés chimiques des polyphénols sont essentiellement liées à celles des noyaux phénoliques [61], particulièrement les substituants à effet mésomère attracteur d'électrons (-M) et les substituants à effet mésomère donneur d'électrons (+M). Ce phénomène augmente la délocalisation électronique et produit une charge négative partielle sur les atomes C₂, C₄, C₆. De ces caractères de base découlent les différentes propriétés physico-chimiques suivantes :

- la nucléophilie,
- les propriétés réductrices,
- la polarisabilité,
- la formation de liaison hydrogène,
- l'acidité,
- la stabilité,
- l'oxydation du noyau aromatique.

2.6. Rôles et intérêts des polyphénols

Les recherches récentes, sur les composés phénoliques en général et les flavonoïdes en particulier, sont très poussées en raison de leurs diverses propriétés physiologiques comme les activités antiallergique, anti-arthérogénique, anti-inflammatoire, hépatoprotective, antimicrobienne, antivirale, antibactérienne, anticarcinogénique, anti-thrombotique, cardioprotective et vasodilatatoire [62, 63].

Le tableau 2.1 donne quelques applications thérapeutiques des polyphénols.

Chapitre 2 : Les polyphénols

Tableau 2.1 : Applications médicales des polyphénols.

Maladies	Auteurs	Année	Références
- Cancer : -Modulation de l'activité des enzymes xénobiotiques, -Métabolisant, -Anti-oxydant, -Anti- inflammatoire, -Activation du système immunitaire, -Induction de l'apoptose -Suppression de l'angiogénèse	Shoaib et al.	2017	[64]
	Amawi et al.		[65]
	Lall et al.	2015	[66]
	Sancho et Mach		[67]
	Brizuela et Cuvillier	2014	[68]
	Nowak et al.		[69]
	Castro et al.		[70]
	Valavanidis et Vlachogianni	2013	[71]
	Belayachi et al.		[72]
Di Domenico et al.	2012	[73]	
Maladies hormonodépendantes	Scalbert et Williamson	2000	[74]
Nombreuses affections cutanées	Davinelli et al.	2017	[75]
	Mena et al.	2014	[76]
	Kumar et Bhatia		[77]
	Kusumawati et Indrayanto		[78]
	Pimple et Badole		[79]
Maladies dégénératives	Hossen et al.	2017	[80]
	Ebrahimi et Schluesener	2012	[81]
Maladies cardiovasculaires	Penov et al.	2014	[82]
	Owen et al.	2008	[83]
Diabète	Castro-Correia et al.	2017	[84]
	Sarian et al.		[85]
	Kandhare et al.		[86]
Maladies neurodégénératives	Maria Bruno et al.	2017	[87]
	Jimenez Del Rio et al	2015	[88]
	Vauzour et al.	2014	[89]
	Jayasena et al.	2013	[90]
	Choi et al.	2012	[91]

2.7. Conclusion

La recherche concernant les composés phénoliques a fait l'objet d'une forte stimulation au cours des dernières années. L'intérêt porté aux composés phénoliques a été renouvelé grâce aux approches de la biologie moléculaire et à la mise en évidence de l'intervention efficace de ces composés dans la lutte contre diverses maladies. Actuellement, les polyphénols occupent une place certaine dans toutes les disciplines scientifiques. La pharmacopée de demain tout comme l'industrie cosmétique pourraient s'enrichir de l'apport de ces phénols biologiquement actifs. Ces composés sont très répandus dans la nature, notamment dans le règne végétal.

CHAPITRE 3 :

L'inule visqueuse

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

3. *Inula viscosa* (*Dittrichia viscosa*)

3.1. Introduction

Les plantes médicinales sont considérées comme facilement disponibles et sont une puissante source d'antioxydants car elles contiennent un mélange de différents composés chimiques pouvant agir individuellement ou en synergie pour soigner les maladies et préserver la santé [92].

Dans le cadre de notre recherche, nous avons choisi de travailler avec une plante connue sous le nom d'inule visqueuse. A multiples usages, cette dernière est une plante médicinale traditionnelle majeure du bassin méditerranéen. Les traces de son utilisation se retrouvent dans de très anciens écrits romains, hébreux ou arabes [93].

3.2. Description botanique

3.2.1 Taxonomie [94,95].

Inula viscosa (L.), synonyme (*Dittrichia viscosa* Greuter), est un nom latin composé de deux parties: *Inula* qui viendrait du grec « Inéo » et qui signifie je purge (allusion à une propriété thérapeutique curative de la plante) et *Viscosa* qui veut dire visqueuse « Aunée visqueuse ».

Le tableau 3.1 met en relief la taxonomie de cette plante.

Tableau 3.1 : Taxonomie de l'Inule visqueuse [95].

Embranchement	SPERMATOPHYTES
Sous-embranchement	ANGIOSPERMES
Classe	DICOTYLEDONES
Sous classe	GAMOPETALES
Ordre	CAMPUNULALES
Famille	COMPOSITAE (ASTERACEES)
Genre	<i>INULA</i>
Espèce	<i>VISCOSA</i> L(AIT)
Synonymie	<i>DITTRICHIA VISCOSA</i> L
Nom commun	INULE, AUNEE VISQUEUSE
Noms vernaculaires	MAGRAMANE, AMAGRAMANE (En Afrique du Nord)

3.2.2 Description

L'inule visqueuse est une plante vivace d'assez grande taille, dressée et à racine pivotante (figure 3.1). Elle peut atteindre 150cm de hauteur. La tige dressée en éventail est très ramifiée. Avec le temps, elle devient ligneuse et d'une couleur plus foncée à la base. Elle est recouverte d'un poil glanduleux, libérant une résine collante à forte odeur (odeur de camphre) présente sur toute la plante. **Sa racine**, forte, visqueuse, glanduleuse, odoriférante, peut atteindre jusqu'à 30 cm de long et présente la particularité d'être pivotante. **Ses feuilles**, de taille moyenne (larges de 5 mm) sont denses, alternes, lancéolées, glanduleuses. Les feuilles de l'inule visqueuse n'ont pas de pétioles. Elles sont rattachées directement à la tige. Leur marge

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

est dentée ou lisse. **Son fruit** est sec et contient une graine unique (d'où l'appellation akène). Il est d'une longueur de 2 mm. Les fruits sont regroupés sur le capitule. La graine est surmontée d'un pappus (une petite touffe de poils). **Ses fleurs** sont regroupées en inflorescences. Elles forment des grappes de capitules d'un diamètre compris entre 10-20 mm. Elles sont de deux types : des fleurs jaune orange en tubes et des fleurs jaunes à pétales. Les premières (les tubulées) sont situées au centre du capitule et les secondes (les ligulées) à l'extérieur [96]. Selon les régions où elle se développe, l'inule visqueuse fleurit à partir de Août-Septembre jusqu'à la fin du mois d'Octobre et parfois même du mois de Novembre. La dissémination des graines de l'inule visqueuse se fait par le vent. C'est la petite touffe qui surmonte la graine qui facilite sa dispersion dans l'air. Les parties aériennes sont les parties les plus utilisées.



(a) (b) (c) (d)
Figure 3.1: Feuilles (a), fleurs (b), grains (c) et fruits d'inule visqueuse(d) [97].

3.3. Aspect anatomique

L'étude histologique de cette espèce a révélé la structure anatomique des différentes parties d'*Inula viscosa* [98].

- **La racine** d'*Inula viscosa* est constituée de quatre tissus : l'épiderme, le parenchyme cortical, le xylème et le phloème. L'anatomie des racines n'est pas homogène, une différence significative a été observée en fonction de l'âge des échantillons collectés (figure 3.2) .

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

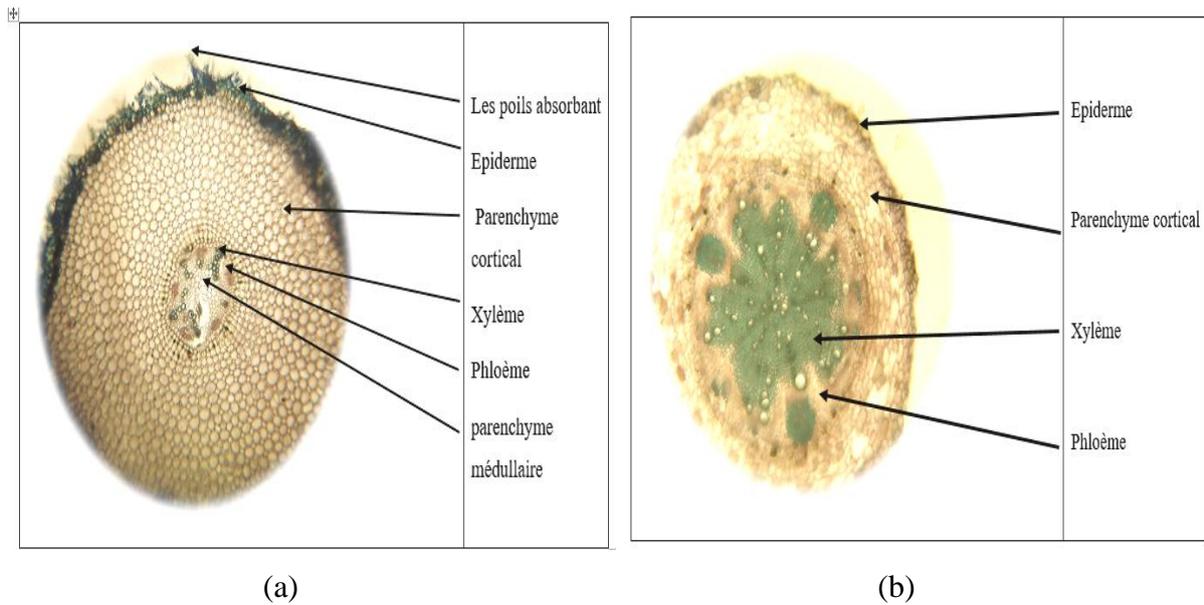


Figure 3.2: Vue microscopique de la racine jeune (a) et âgée (b) d'inule visqueuse (Grossissement 10x10) [98] .

La figure 3.3, quant à elle, donne un aperçu de la structure des tissus de la tige d'*Inula viscosa*. En effet, l'observation microscopique des coupes transversales révèle deux zones concentriques l'écorce (extérieur) et le cylindre central (intérieur), le cylindre central étant plus épais que l'écorce.

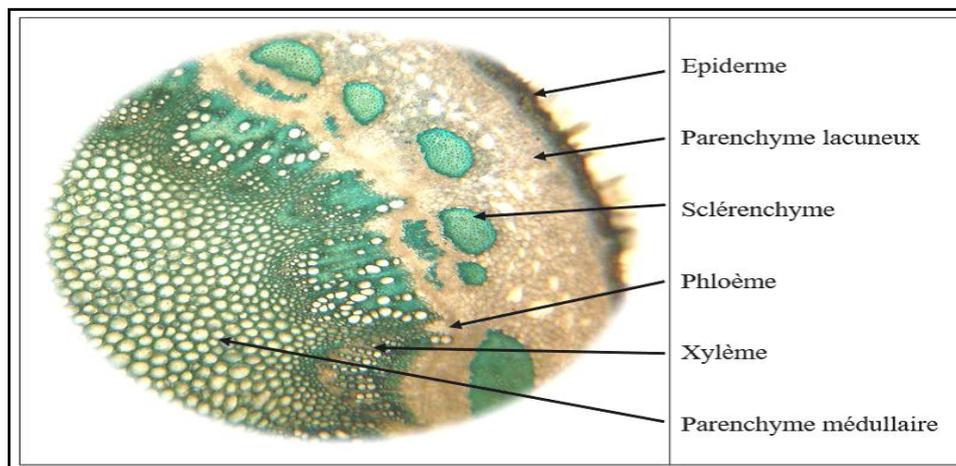


Figure 3.3: Tissus de la tige d'inule visqueuse [98].

Au niveau de l'écorce (cortex), la présence de poils protecteurs, d'épiderme, de parenchyme cortical (parenchyme lacuneux) et de sclérenchyme a été constatée.

Au niveau du cylindre central, le xylème et le phloème sont superposés (le phloème étant au-dessus du xylème) et disposés sur un seul cercle. La présence de parenchyme médullaire à méats (la moelle) est aussi observée.

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

L'observation microscopique révèle deux parties dans la structure de la feuille: le limbe et la nervure principale. La figure 3.4 met en relief les différents tissus composant la feuille d'inule visqueuse.

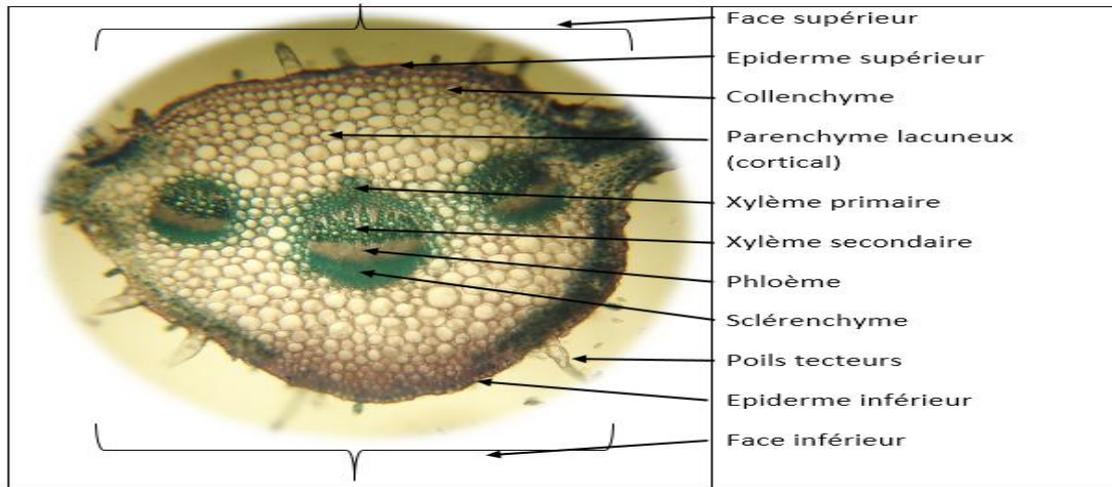


Figure 3.4: Vue microscopique des tissus de la feuille d'inule visqueuse [98].

Les feuilles de l'inule visqueuse possèdent de longs poils protecteurs, de nombreux trichomes glandulaires et des stomates sur les deux faces de la feuille (figure 3.5(a)). Les poils protecteurs ont une structure complexe constituée d'environ 10 cellules basales disposées en rangée verticale avec diminution progressive de l'ampleur vers l'extrémité supérieure. La cellule terminale est plus longue que l'autre et pointue (figure 3.5(b)). Les trichomes glandulaires sont plus courts et sécrètent une substance emprisonnée entre la paroi cellulaire et la cuticule de la cellule de la tête (figure 3.5 (b)).

Les complexes de stomates de type anomocytique situés au-dessus des chambres substomatales du mésophyle sont facilement distingués sur l'épiderme (figure 3.5(c)). Le parenchyme spongieux est compact ne laissant que quelques espaces intercellulaires. Toutes les cellules palissadées du parenchyme contiennent des inclusions vacuolaires de formes sphériques remplies de lipides et de composés phénoliques [99, 100].

Les produits sécrétés par les feuilles de l'inule visqueuse sont soit exsudés à travers de fins pores dans la cuticule ou soit accumulés au-dessous de la cuticule pour être par la suite évacués vers l'extérieur après une légère rupture de la cuticule par un facteur externe [101].

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

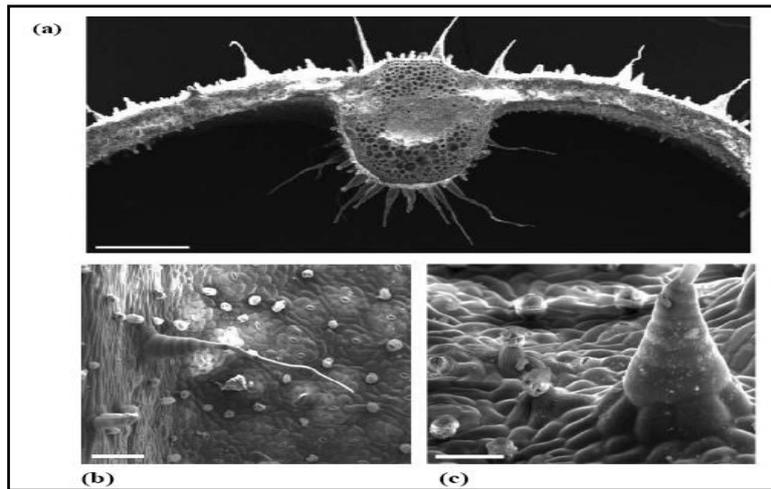


Figure 3.5 : Vue par MEB d'une coupe transversale (a) et de la surface (b, c) de la feuille d'inule visqueuse [99].

3.4. Répartition géographique

Avec plus de cent espèces, *Inula viscosa* est largement répandue dans le bassin méditerranéen (Algérie, Maroc, France, Espagne) mais aussi en Asie (Chine, Japon, Corée avec plus de 20 espèces en Chine) [93]. L'inule visqueuse se rencontre dans les lieux incultes: bords de chemins, décombres, terrains abandonnés, jachères, arrière dunes ou garrigues bien ouvertes. C'est une plante hémicryptophyte qui peut s'adapter aux climats secs et chauds de l'été. En Algérie, l'espèce est localisée en général dans les régions de moyenne altitude du Tell, dans les terres garrigues et rocailleuses ainsi que dans les terrains argileux humides.

3.5. Phénologie

D'après les études de Parolin et al, (2013) [102], l'inule visqueuse commence à produire de nouvelles feuilles de 1 cm de long à la fin du mois de Mars. Ces dernières sont positionnées sur la base inférieure des tiges. Au début du mois d'Avril, ces feuilles mesurent de 1 à 5 cm puis s'étendent à 8-10 cm à la fin du mois. À la mi-Mai, 60% à 90% des tiges sont couvertes par de nouvelles feuilles, la production des feuilles se continue jusqu'à la fin du mois d'Octobre (apparition de grandes feuilles vertes). A la mi-Novembre, seulement 5% des feuilles restent verts tandis que la plupart des plantes virent vers une couleur grisâtre. Pendant l'hiver, la totalité des feuilles sont grises et mortes. Elles seront renouvelées par de nouvelles feuilles au prochain mois de mars.

Les boutons floraux apparaissent à la fin du mois de Juillet. Dans la deuxième décennie du mois d'Août, la plupart des fleurs ont une couleur jaune. Elles sont matures et brillantes. De nouvelles fleurs apparaissent au mois d'Octobre [102].

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

L'apparition des premiers fruits avec akènes et pappus poilus est constatée au début du mois d'Octobre. Ces fruits sont présents jusqu'au mois de Novembre. Au-delà de cette période et sous l'action du vent, les graines seront dispersées et le reste de fruits (capsules sèches) persistent sur la tige durant l'hiver [102].

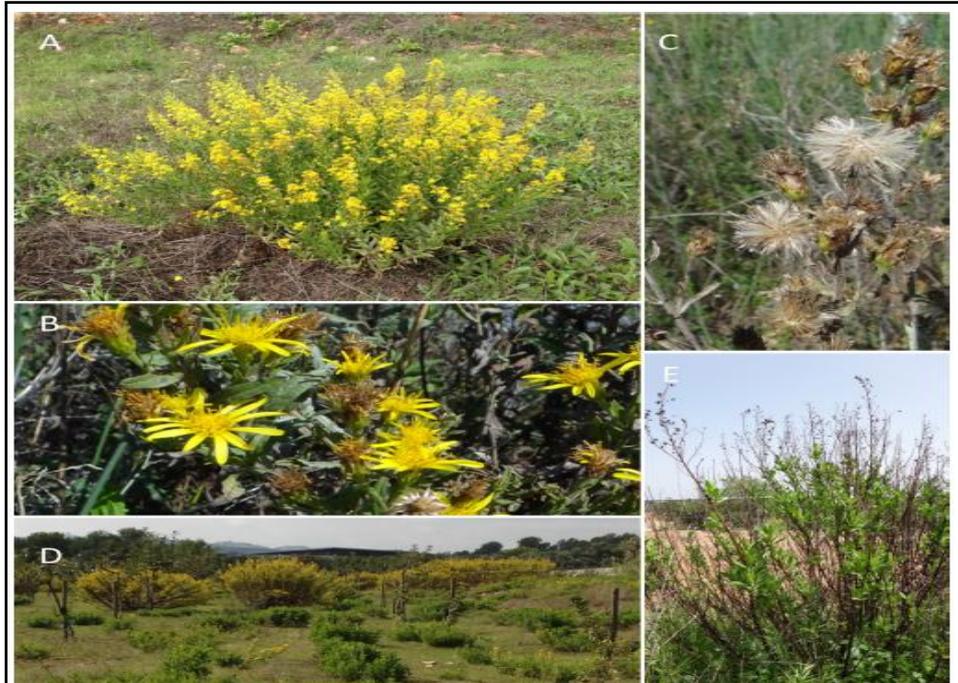


Figure 3.6. *Dittrichia viscosa* - A) plante à fleurs entières (août), B) fleur, C) fruits mûrs, D) plantes adultes matures au fond et jeunes plantes non florifères au premier plan (octobre), E) nouvelles feuilles (avril) [102].

3.6. Aspects phytochimiques

L'inule visqueuse produit des sucres solubles, de l'amidon, des lipides et de l'azote. Les sucres solubles sont produits en été, période de croissance de la plante. L'amidon est accumulé dans toutes les parties de la plante pendant la croissance allant de Mars à Juin. Après cette période, il est épuisé et peut être transformé en carbohydrates solubles si le climat est agressif. Les lipides sont accumulés dans les jeunes feuilles en phase de développement à partir du mois d'Avril. L'accumulation s'achève en été notamment durant la période de sécheresse. Les plus fortes concentrations en azote sont enregistrées en hiver et au printemps [103]. L'inule visqueuse est aussi riche en métabolites secondaires. L'étude effectuée par Benayache et al. ,1991 [99] a montré que les parties aériennes d'*Inula viscosa* contiennent des flavonoïdes, des acides sesquiterpéniques et des triterpènes esters. Les feuilles sont dominées par les sesquiterpènes oxygénés et les flavonoïdes. Les fleurs sont riches en monoterpènes, en composés aromatiques oxygénés et en hydrocarbures sesquiterpènes. Les racines contiennent de nombreux composés que sont l'inuline, l'hélénine ou le camphre d'Aunée [97], la

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

Paraffine (Pentacosane) [104] ainsi que 3 sesquiterpènes essentiels : l'alantole, l'alantolactone et l'acide allantique [105].

3.7. Effets thérapeutiques et utilisations diverses

3.7.1. Effets thérapeutiques

Inula viscosa est une plante médicinale, anciennement connue pour ses vertus réparatrices, sédatives, tonifiantes, revitalisantes et immunologiques. Présente dans toute l'aire méditerranéenne, elle est considérée comme une panacée [106].

Les feuilles de l'inule visqueuse secrètent un mélange de résines tout au long de la durée de leur vie. Ces exsudats se composent de flavonoïdes aglycones ainsi que de nombreux terpénoïdes. Ces exsudats ont une activité allélopathique et un effet inhibiteur vis-à-vis des microorganismes phytopathogènes. Ces feuilles sont utilisées en cataplasme pour traiter les abcès, la gale [107], les dermatoses, les furoncles, les ulcères, les gerçures. Elles sont aussi utilisées comme cicatrisant des plaies cutanées [108, 109].

La racine de cette plante est riche en inuline, fructose extrêmement nutritif qui expliquerait son usage traditionnel par les femmes, notamment au Maroc, pour susciter l'appétit mais aussi comme un antiémétique [110, 111].

En infusion, l'inule visqueuse présente une action hypoglycémiante chez le diabétique. L'extrait aqueux de cette plante pourrait aussi jouer un rôle préventif dans le développement du diabète sucré par l'amélioration des métabolismes glucidiques, lipidiques et protéiniques [112].

Elle peut être aussi utilisée comme un antioxydant et antihypertenseur [113, 114].

Les travaux de Bezanger et al. (1990) [115] ont montré que l'hispiduline, qui est un flavonoïde présent dans la feuille de l'inule visqueuse, exerce un pouvoir relaxant sur les muscles.

D'autres travaux ont mis en évidence l'activité antiparasitaire et antihelminthique de *Inula viscosa*. Cette plante présente aussi des propriétés antifongiques à des concentrations de 10 µg/mL [47].

Le Bornéol, l'Acétate de bornyle et l'Acétate d'isobornyle, utilisés en parfumerie, peuvent être isolés à partir des huiles essentielles et des oléorésines de la plante.

3.7.2 Phytomanagement des sites pollués

L'inule visqueuse a une grande habilité à pousser dans des sols riches en nickel, en magnésium ou en arsenic ce qui lui confère un grand potentiel comme plante bio-accumulatrice. En effet, l'étude menée par Conesa et al. (2011) [116], sur l'inule visqueuse se

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

trouvant dans les marais méditerranéens pollués par les déchets miniers, a montré des concentrations les plus élevées en métaux et en arsenic parmi les 21 espèces analysées.

3.7.3. Application dans la lutte biologique

De par son rôle dans la protection des cultures, l'inule visqueuse est surnommée "insecticide végétal". En effet, grâce à ses caractéristiques allélopathiques, l'inule visqueuse peut être utilisée comme plante accompagnante car elle améliore la défense chimique des autres plantes cultivées [117].

3.7.4. Inhibiteur de corrosion

Nawafleh et al. (2012) [118] ont montré que l'extrait de l'inule visqueuse inhibe la corrosion du cuivre. L'efficacité de l'inhibition atteint 86,49% avec 7mL de l'extrait. Ces auteurs ont constaté aussi que le taux d'inhibition augmente avec la concentration de l'extrait et la température.

3.8. Travaux récents sur l'extraction de l'inule visqueuse

Dans le but de remplacer les antioxydants synthétiques par des molécules issues de produits naturels, des travaux ont été réalisés sur l'inule visqueuse. Plusieurs méthodes d'extraction ont été utilisées. Le tableau 3.2 regroupe les différents travaux effectués, dans ce sens, sur cette plante.

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

Tableau 3.2. Travaux récents sur l'extraction par solvant des principes actifs d'inule visqueuse.

Solvant	Conditions opératoires	Rendement	Références
Ethanol et Méthanol	S/L=5g / 150 mL T ambiante t= 48 h	TP=173,15 mg EAG/gMS CE ₅₀ = 12,47µg/mL. TF= 142,5 mg EC/g	[119]
80% Méthanol	S/L= 1g/10 mL t=24 h T=4°C	TP= 103 mg EAG/g MS TF=99 mg EC/g MS	[120]
Ethanol	S/L= 1g/10 mL t=3h 3 régions Maroc	Rdt= 13,35-23,9 % TP=170-274 mgEAG/g MS IC ₅₀ = 0,28-1,86 mg/mL	[121]
Acétate d'Ethyle	T ambiante S/L= 1g/10 mL t=3h 3 régions du Maroc	Rdt= 10,5-21,3 % TP=140-240 mgEAG/g MS IC ₅₀ =0,18-0,27mg/mL	
80% Méthanol	T ambiante S/L=1g/10 mL t=48 h	TP=314 mg EAG/gMS IC ₅₀ =125 mg/mL	[122]
Eau Ethanol Acétate d'Ethyle	S/L=5g /100 mL t= 1 h T=50°C, W=250 rpm	Rdt=15-21% TP=176,9-177,1 mg AGE/ gMS IC ₅₀ = 0,28-0,99 mg/mL	[123]
75% Acétone	T=40-50°C H=20-60 % d=112-250 µm	Rdt= 18,1%	[124]
Méthanol / Ethanol	S/L= 15,9 g/L t=8 h H=18,48%	Rdt = 80,1% et 83,8% respectivement	[125]
96,6% Ethanol	S/L=50 g /200 mL t= 15 jours	Rdt=5,49 ± 0,77% TP=1,85 ± 0,09 mg/g CE ₅₀ =220,35 mg AO/gDPPH'	[126]
Méthanol	S/L= 15,5g /L t=8h H=10,26%	Rdt = 19,92 %	[127]
Hexane	Soxhlet S/L= 15,5 g/L H= 7,46% Pression atmosphérique t = 7 h	Rdt = 6,51%	[128]
	Lit fixe avec circulation en continu du solvant S/L = 30 g/L H= 7,46% Patm t=7 h	Rdt = 5,73%	[129]
Acide borique 0,1 M avec addition de NaOH	Autoclave T=121° C t=15 min	Rdt = 0,485%	[130]

Chapitre 3 : L'inule visqueuse

3.9. Conclusion

L'inule visqueuse est une plante vivace distribuée dans différentes régions du bassin méditerranéen notamment en Algérie. Grace à son potentiel thérapeutique élevé et à sa forte abondance, cette plante rudérale a attiré l'attention de nombreux chercheurs qui, à ce jour, continuent d'extraire et de valoriser au mieux les principes actifs de l'inule visqueuse.

CHAPITRE 4 :

Extraction des composés phénoliques

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

4.1. Introduction

L'extraction de principes actifs à haute valeur ajoutée, à partir de la matière végétale, notamment le cas des polyphénols qui suscitent actuellement beaucoup d'intérêt grâce à leur pouvoir antioxydant, est une étape très importante dans l'isolement aussi bien que dans l'identification des composés phénoliques. En conséquence, beaucoup d'auteurs ont développé de nouveaux modes d'extraction et ont étudié l'influence de différentes conditions d'extraction sur les rendements d'extraction de composés phénoliques de source végétale.

4.2. Quelques définitions

4.2.1. Extraction végétale

On parle d'extraction végétale lorsque l'on utilise un solvant (Eau, Ethanol, Acétone, Hexane, Acétate d'Ethyle...) sur une matière première végétale pour en extraire certains composés ou molécules. Le solvant est ensuite éliminé partiellement ou totalement pour obtenir un extrait.

4.2.2. Huile essentielle

Selon la norme AFNOR NF T 75-006, l'huile essentielle est un produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale après séparation de la phase aqueuse par des procédés physiques: entraînement à la vapeur d'eau, procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des Citrus et distillation sèche » [131].

4.2.3 Extrait

Certains composés contenus dans les plantes sont des substances non entraînaibles par la vapeur d'eau et donc absents de l'huile essentielle. Par contre, ils sont extractibles par certains solvants organiques. En utilisant ces solvants, on obtient des extraits beaucoup plus complets renfermant les substances volatiles mais aussi les triglycérides, les cires, les colorants de nature lipidique et les substances sapides. Le solvant est ensuite éliminé avec le plus grand soin de manière à ne pas faire disparaître les substances les plus volatiles. Par cette méthode d'extraction, deux types de produits sont fabriqués : les concrètes, à partir de substances végétales fraîches et les résinoïdes à partir de substances végétales sèches. Le terme oléorésine désigne indifféremment l'un ou l'autre de ces deux extraits [132].

4.3. Facteurs influençant les performances de l'extraction

4.3.1. La taille des particules

Tous les auteurs s'accordent sur l'effet généralement positif du broyage sur les opérations d'extraction. Le broyage du solide permet d'intensifier les phénomènes de transfert du solvant à travers l'augmentation de la surface spécifique (surface d'échange entre le solvant et le solide) mais également la réduction de la distance de pénétration dans le matériau végétal. Dans les opérations de transfert de matière par diffusion, le gradient de concentration

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

augmente directement avec la diminution de la taille de la particule et le temps de traversée nécessaire intervient généralement proportionnellement au carré de la distance traversée. L'opération doit donc être nettement mieux intensifiée à la suite d'un bon broyage [133].

Cependant, si les particules sont trop petites, on peut avoir un problème d'évaporation des composés volatils et de suppression des éléments actifs. Les particules très fines réduisent la perméabilité du lit solide au solvant ce qui entraîne l'établissement de chemins préférentiels bloquant ainsi le processus d'extraction dans des endroits où le solvant ne peut pas circuler [131, 134].

4.3.2. La nature du solvant

La taille des molécules de solvant exerce une influence sur la diffusion. Il est également question de sélectivité, afin d'extraire le maximum de soluté et le minimum des autres constituants du cytoplasme. Le choix du solvant dépend de nombreux paramètres techniques et économiques. En résumé, le solvant doit satisfaire les spécifications suivantes [135]:

- ✓ Etre sélectif par rapport aux produits à extraire,
- ✓ Posséder une grande capacité de dissolution,
- ✓ Avoir une température peu élevée pour éviter toute dégradation des constituants thermolabiles,
- ✓ Etre non toxique, non inflammable, non explosif,
- ✓ Avoir une volatilité élevée pour éviter les opérations d'évaporation,
- ✓ Avoir une faible viscosité, une faible tension interfaciale et une masse volumique peu élevée pour faciliter la diffusion, l'agitation, la séparation mécanique et bien mouiller la matrice solide.

Actuellement, dans le secteur de l'extraction de substances naturelles, les solvants les plus utilisés sont l'Hexane, le CycloHexane, le Méthanol et moins fréquemment le DichloroMéthane et l'Acétone. Cependant, un grand nombre de ces solvants organiques sont inflammables, très volatils et toxiques. Ils posent donc des problèmes de sécurité ainsi que des problèmes environnementaux. Les solvants tels que le Méthanol, l'Ethanol, le Propanol, l'Acétone, l'Acétate d'Ethyle et l'Eau ainsi que leurs mélanges sont largement utilisés pour l'extraction des composés phénoliques. Les mélanges extraient souvent mieux les substances ciblées que les solvants purs [136,137].

Néanmoins, l'Eau, l'Ethanol et leurs mélanges sont les plus couramment utilisés lorsque les extraits sont destinés à la consommation humaine car ils sont exempts de toxicité. Ils sont ainsi considérés comme des solvants de qualité alimentaire, abondants et peu coûteux.

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

4.3.3. Le pH du milieu d'extraction

La polarité de nombreuses molécules varie avec le pH du solvant. Par conséquent, leur solubilité peut dépendre également de l'acidité ou de la basicité du solvant. Dans le cas des polyphénols, l'acidification est souvent utilisée pour augmenter leur stabilité, améliorer leur dissolution, faciliter leur solubilisation et leur diffusion dans la matrice végétale et favoriser la dénaturation des membranes cellulaires.

L'extraction à différents pH peut permettre de cibler différents groupes d'une même famille et ainsi obtenir des extraits riches en composés ciblés. Aussi, une extraction à pH=6 a permis, à partir de fibres d'avoine, d'avoir des rendements intéressants en composés phénoliques. Par contre, à pH=10, les acides gras et les protéines ont pu être extraits [138].

4.3.4. Le temps et la température

Ce sont deux paramètres importants que l'on se doit d'optimiser dans toute opération d'extraction afin de minimiser le coût énergétique du processus.

L'estimation du temps optimal d'extraction des polyphénols reste controversée. En effet, certains auteurs préconisent de courtes durées d'extraction de 5 à 30 min [139] alors que d'autres auteurs montrent la nécessité de temps d'extraction plus longs de 1h à 24 h [140].

Cependant, un temps très long peut jouer en la défaveur du rendement d'extraction mais aussi de la qualité antioxydante des extraits.

En ce qui concerne la température, nous pouvons dire que dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction. En effet, l'augmentation de la température permet la réduction de la viscosité du solvant ce qui induit une bonne pénétration de celui-ci dans la matrice végétale. En outre, la chaleur conduit non seulement vers une meilleure solubilité des composés mais aussi vers une augmentation des coefficients de diffusion. De plus, les parois cellulaires sont rendues plus perméables par l'apport de chaleur [140, 141].

Cependant, il y a lieu de signaler qu'une température excessive peut provoquer une dénaturation des produits à extraire mais aussi affecter la stabilité des composés phénoliques [142-145].

4.3.5. L'agitation

Elle permet la mise en suspension des particules de solide dans le solvant mais aussi l'homogénéisation du milieu considéré. L'agitation permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide-liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert. Si l'agitation est maintenue durant une longue période, elle va favoriser les chocs

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

entre les différentes particules et permettre ainsi l'éclatement de certaines cellules qui vont libérer leur contenu cellulaire dans le milieu [131].

4.3.6. Le rapport solide/liquide

Plus ce rapport est faible et meilleure serait l'extraction des polyphénols. Ce ratio pourrait être diminué en jouant sur le volume de solvant. Cependant, augmenter le volume de solvant, hormis les considérations relatives à sa toxicité, pourrait influencer le coût économique et énergétique de l'extraction, diluer le soluté et allonger la procédure d'extraction puisque l'élimination du solvant en fin de process serait plus longue.

Cependant, des rapports solide/liquide trop élevés pourraient induire une saturation du soluté dans le solvant et diminuer la pénétration du solvant dans le matériau végétal [146].

4.3.7. Le soluté

Le soluté à extraire influe sur la diffusion de par sa structure moléculaire, sa taille, sa localisation, sa répartition et ses liaisons dans la matière végétale avec d'autres composés. Il a été montré que la vitesse de diffusion diminue quand la taille moléculaire augmente. Les substances à extraire, localisées à l'intérieur des cellules, se présentent sous forme libre alors que celles qui participent à la structure sont liées à d'autres composés. Leurs concentrations varient selon les conditions climatiques de croissance, les conditions de récoltes, l'état de maturité et le conditionnement.

4.3.8. L'humidité

En règle générale, les matières végétales sont séchées pour faciliter leur conditionnement et leur stockage. Un surplus d'humidité peut donc détériorer le substrat. De plus, lors de l'utilisation de solvants hydrophobes, la diffusivité est inversement proportionnelle à la teneur en eau du solide.

4.4. Les différentes méthodes d'extraction

4.4.1. Les techniques d'extraction conventionnelles

a. L'extraction solide-liquide par solvant [147-149]

L'extraction solide-liquide est le mode d'extraction le plus utilisé pour l'extraction des composés phénoliques [147]. Elle est réalisée par contact intime entre le solide et le solvant. Le transfert de matière est non stationnaire grâce à la concentration du soluté dans le solide qui varie sans interruption. Ce transfert passe par différentes étapes:

- la diffusion du solvant au sein de la matrice solide,
- la dissolution du soluté dans le solvant,
- la diffusion du soluté dissous dans le solvant de la matrice solide vers la surface,

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

- le transfert par convection ou diffusion du soluté contenu dans la solution près du solide vers la masse restante du solvant.

Dans le cas de la plupart des végétaux, c'est l'étape de transfert du solvant à travers la matrice solide qui constitue l'étape limitante [132].

Pour la thermodynamique, le corps solide est un mélange homogène à l'équilibre. L'apport d'une énergie thermique et mécanique crée un déséquilibre. Les molécules actives présentes dans la plante (soluté) diffusent alors vers l'extérieur sous l'effet du gradient de concentration en soluté entre la solution au voisinage intime de la phase solide (plus concentrée) et la phase liquide. L'opération s'achève quand les concentrations des deux côtés deviennent égales [132].

Les opérations d'extraction solide-liquide regroupent plusieurs méthodes.

a.1. L'enfleurage et la macération à chaud [150]

L'extraction par enfleurage est un procédé très peu employé de nos jours et ressemble à l'extraction par solvant. On considère deux types d'enfleurage, l'enfleurage à froid et l'enfleurage à chaud.

L'enfleurage à froid consiste à mettre en contact les fleurs avec de la graisse animale que l'on aura au préalable étalée sur un châssis en bois. La graisse va alors absorber l'huile essentielle de la fleur. On répète cette technique durant plusieurs jours jusqu'à ce que la graisse soit saturée d'huile essentielle. Ensuite, on récupère les graisses parfumées appelées « pommades » et on les traite avec de l'alcool pour en extraire les molécules odorantes. Puis, la graisse, appauvrie en essence, est recueillie par filtration. L'alcool s'évapore ne laissant alors que l'huile essentielle que l'on appelle, comme pour l'extraction par solvant, « absolue » et qui est d'une très grande qualité olfactive. Ce procédé est réservé aux plantes extrêmement délicates comme le jasmin ou la violette.

L'enfleurage à chaud est quant à lui un moyen d'extraction utilisé pour des plantes moins fragiles comme la rose, la fleur d'oranger ou le mimosa dont l'extraction à froid n'est pas suffisante pour extraire toute l'essence.

On fait macérer les plantes dans de la graisse pure, à 60 degrés et on les laisse infuser pendant environ deux ou trois jours. On filtre ensuite ce mélange pour séparer les fleurs et la graisse. On obtient ainsi la pommade. Puis, on effectue la même étape qu'avec l'enfleurage à froid afin d'obtenir un absolu, c'est à dire qu'on effectue un lavage avec de l'alcool avant de laisser évaporer le tout.

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

a.2. L'extraction par expression [150]

Ce procédé s'applique aux huiles citronnées et agrumes (bergamote, citron, mandarine, orange...). Dans ce cas, les écorces ou zestes sont tout simplement pressés par une machine (quelquefois à la main) pour en recueillir les essences. Le produit obtenu se nomme «essence» et non «huile essentielle» car aucune modification chimique liée à la vapeur d'eau n'a eu lieu.

b. La distillation à la vapeur et ses variantes

L'hydrodistillation et ses variantes reposent sur le même principe : entraînement des constituants volatils du matériau végétal par la vapeur d'eau. La différence entre ces procédés réside dans le degré de contact entre l'eau liquide et le matériau végétal [151].

b.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation (figure 4.1) consiste à porter à ébullition, généralement à pression atmosphérique, un mélange de composés organiques et d'eau. La chaleur permet l'éclatement et la libération des molécules odorantes contenues dans les cellules végétales. La vapeur, chargée de l'essence de la matière première distillée, se condense dans le serpentin de l'alambic avant d'être récupérée dans un essencier. La condensation de ce mélange gazeux provoque sa séparation en deux phases: une phase organique huileuse et très odorante appelée "huile essentielle" et une phase aqueuse, odorante, appelée "eaux aromatiques" [152].

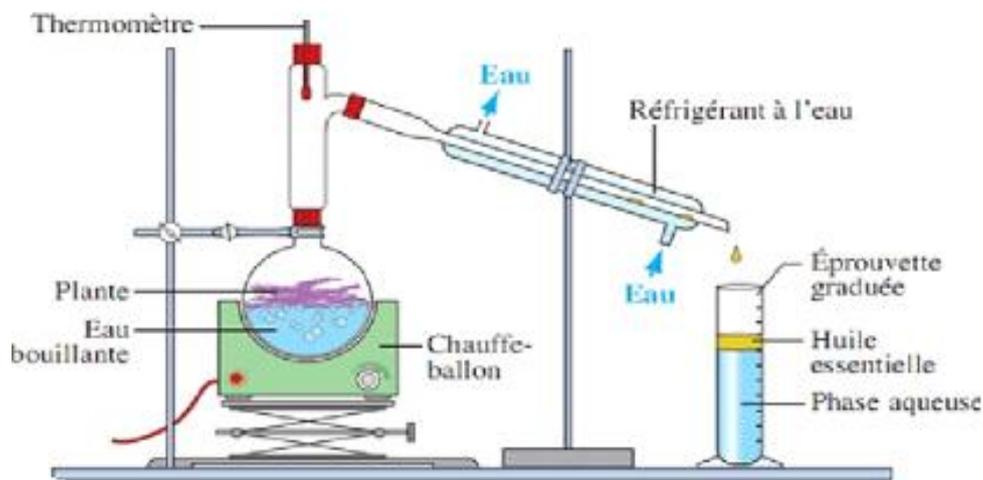


Figure 4.1 : Schéma descriptif de l'hydrodistillation [152].

b.2. L'entraînement à la vapeur d'eau ascendante et descendante

- L'entraînement à la vapeur d'eau [153]

Dans cette technique la matière végétale à traiter n'est pas en contact direct avec l'eau (figure 4.2). De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au-

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, certaines cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange «eau + huile essentielle». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et en une phase organique. L'absence de contact direct, entre l'eau et la matière végétale puis entre l'eau et les molécules aromatiques, évite certains phénomènes d'hydrolyse ou de dégradation pouvant nuire à la qualité de l'huile.

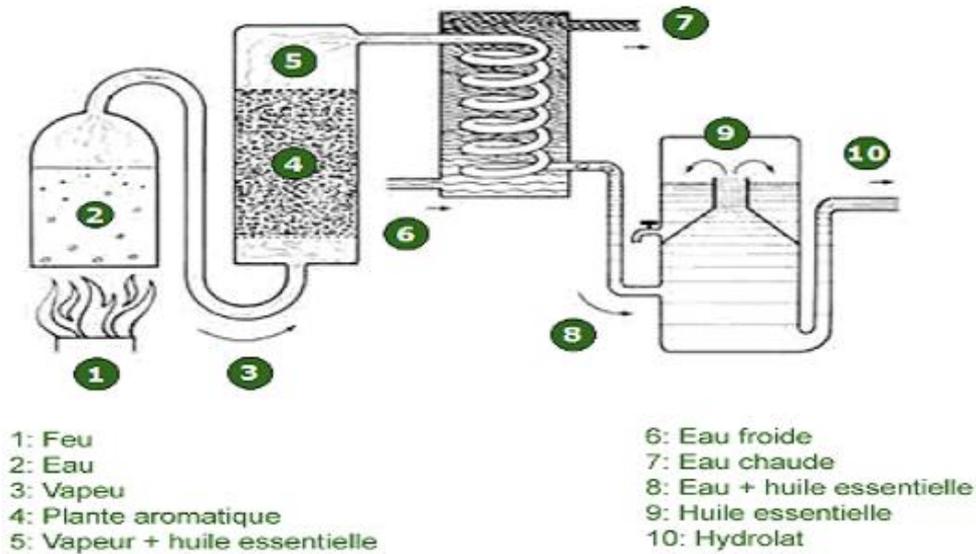


Figure 4.2: Schéma descriptif de l'entraînement à la vapeur d'eau [153].

- **L'hydrodiffusion**

Contrairement à l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau, l'hydrodiffusion (figure 4.3) fait passer la vapeur de haut en bas à travers la matière végétale, diminuant ainsi le temps de distillation de 30% et augmentant le rendement de l'extraction. Cependant, la composition des produits obtenus est légèrement différente. L'huile essentielle obtenue avec ce procédé contient des composés non volatils ce qui lui vaut une appellation spéciale: « essence de percolation ».

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

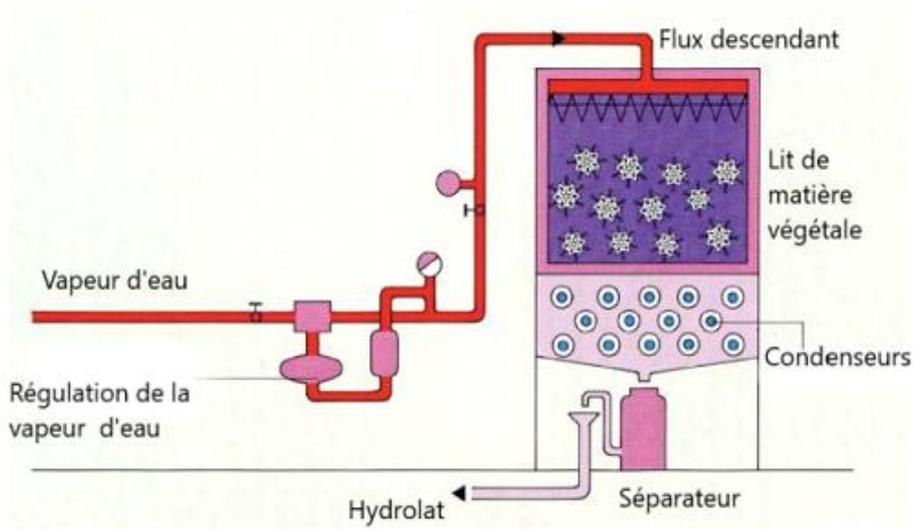


Figure 4.3: Schéma descriptif de l'hydrodiffusion [150].

4.4.2. Les nouvelles techniques d'extraction

a. L'extraction par des fluides supercritiques (EFS)

Le fluide supercritique le plus utilisé est le dioxyde de carbone [154]. Le CO_2 est thermodynamiquement stable, insipide, inodore et incolore. Il est ininflammable mais peut être asphyxiant à haute concentration. Son point critique est de $P_c = 73,6$ bar et $T_c = 31,4$ °C. Dans cet état, l'extrait devient insoluble dans le CO_2 et précipite au fond de l'enceinte. Le gaz carbonique est ensuite liquéfié et peut être à nouveau utilisé (figure 4.4).

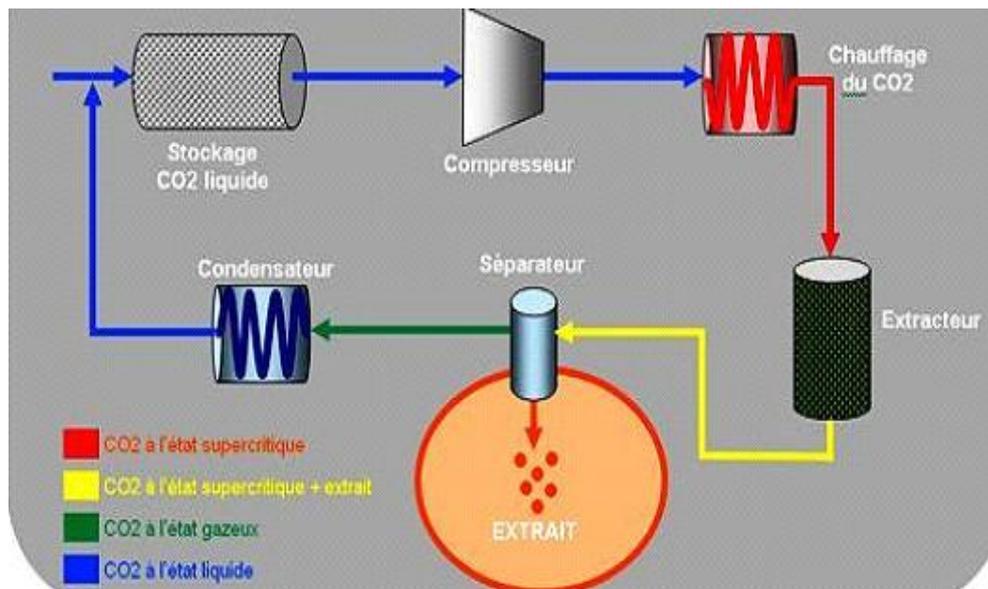


Figure 4.4 : Principe d'extraction au CO_2 supercritique [154].

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

L'extrait récupéré ne contient aucune trace de solvant résiduel qui est facilement éliminé sous forme gazeuse. Le CO₂ est ensuite recyclé et ramené à l'état supercritique. Afin d'extraire les composés les plus volatils dont la composition est de type « huiles essentielles », on utilise des pressions d'extraction modérées (entre 80 et 100 bar). A des pressions plus élevées (200 à 280 bar), on extrait également des composés plus lourds dont la composition est de type « concrètes ».

L'extraction aux fluides supercritiques, le plus souvent du CO₂, permet d'extraire des substances odorantes peu volatiles et plus particulièrement les matières sèches qui sont récalcitrantes aux méthodes d'extraction traditionnelles. De ce fait, elle a été utilisée pour extraire les composés aromatisants de nombreux aliments comme des épices [155], du riz [156], de diverses boissons [157] et du café [158].

En outre, le CO₂ ne pollue pas et est inoffensif car il est recyclé à l'intérieur du système. Les huiles essentielles extraites de cette manière ont l'avantage d'éviter la dégradation thermique associée à la distillation à pression atmosphérique. L'avantage, bien sûr, c'est qu'aucun résidu de solvant ne reste, puisque, aux pressions et températures normales, le CO₂ revient simplement à l'état gazeux et s'évapore.

b. L'extraction assistée par micro-ondes (EAM)

Depuis 1986, avec les travaux de Ganzler et al. [159], de nombreuses matrices dont la matière végétale ont été soumises à une extraction assistée par micro-ondes.

Le principe de cette méthode repose sur l'effet direct des micro-ondes sur les molécules par conduction ionique et rotation de dipôle. De ce fait, le transfert de chaleur n'a plus lieu de l'extérieur vers l'intérieur de la matière végétale mais dans le sens inverse. Les deux phénomènes de transfert, de chaleur et de matière, ont lieu dans la même direction. Ceci serait à l'origine de l'accélération du procédé et de l'augmentation des rendements [160].

La puissance et le temps d'extraction, pour les produits naturels sont dans la gamme de 25 à 750 W et 30s à 10 min, respectivement [147]. Ganzler et al. [161] citent, comme avantages généraux de cette technique, son fort rendement d'extraction, sa rapidité d'exécution ainsi que son coût réduit. L'extraction par micro-ondes regroupe plusieurs procédés. Ils découlent des différents procédés d'extractions classiques mais dont la source de chauffage est remplacée par les micro-ondes [153].

- Entraînement à l'air assisté par micro-ondes,
- Hydrodistillation assistée par micro-ondes,
- Hydrodiffusion assistée par micro-ondes,

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

- Extraction sans solvant assistée par micro-ondes,
- Entraînement à la vapeur assisté par micro-ondes.

c. L'extraction par fluide pressurisé (EFP)

L'extraction par fluides pressurisés (EFP) est aussi connue sous le nom d'extraction accélérée par fluide, extraction augmentée par solvant ou extraction par solvant à haute pression [162]

L'extraction à haute pression permet de maintenir le solvant sous forme liquide, au-delà de son point d'ébullition et facilite l'extraction des molécules [163].

Cette méthode permet de réduire les temps d'extraction et la quantité de solvant utilisée [147].

Concernant les extractions de composés polaires, la PFE est une alternative à la EFS [164].

Les températures élevées d'opération augmente la solubilité des molécules et donc les rendements mais, peuvent dégrader les molécules thermolabiles [147,163].

d. L'extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'extraction assistée par ultrasons (20-100kHz) a suscité beaucoup d'intérêt au cours des dernières années en raison de ses nombreux avantages dans la récupération de composés à partir de différents matrices végétales et ce, par rapport aux méthodes classiques d'extraction.

C'est une technique émergente trois fois plus rapide qu'une extraction simple par solvant [147].

Facile à mettre en œuvre, elle consomme peu de solvant et d'énergie [165].

En effet, lors d'une extraction solide-liquide assistée par ultrasons, l'échantillon est immergé dans le solvant et est soumis à l'action des ultrasons. Cette technique peut être utilisée pour l'extraction des composés aromatiques ou des essences de plantes, mais elle a surtout été développée pour l'extraction de certaines molécules ayant un intérêt thérapeutique [166, 167].

Pendant la sonication, les ondes sonores utilisées induisent des vibrations mécaniques dans le solide, le liquide ou le gaz, à travers une succession de phases d'expansion et de compression, comme au cours d'un phénomène de cavitation. Les bulles naissantes sont capables de croître au cours de phases de dépression et de diminuer en taille au cours de cycles de compression. Lorsque la taille des bulles atteint un point critique (à la fin d'un cycle de décompression), leur effondrement a lieu au cours du cycle suivant de compression. Il en résulte une implosion violente qui libère de grandes quantités d'énergie. La température et la pression, au moment de l'effondrement, peuvent atteindre respectivement 5000K et 50MPa [168].

Si ces bulles se situent près d'une surface solide, alors le dégonflement sera asymétrique, ce qui produira des jets de liquide ultra-rapides (figure 4.5).

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

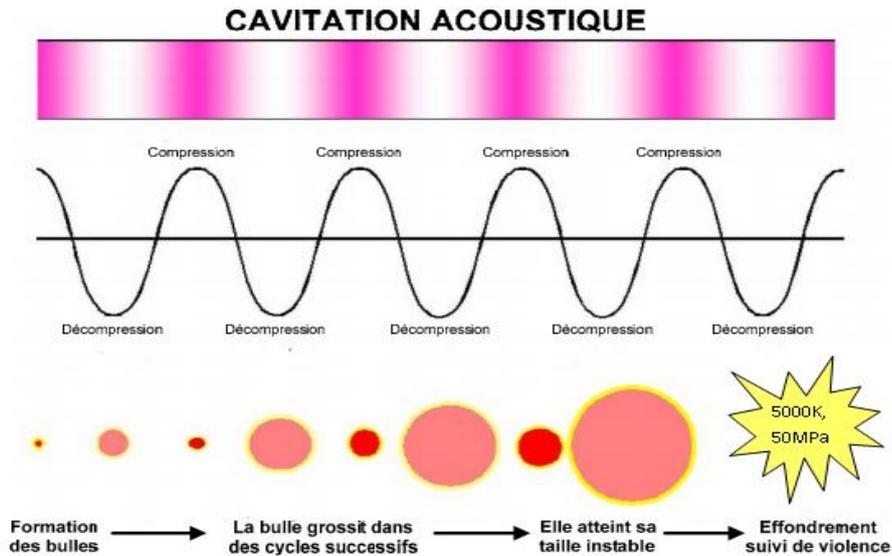


Figure 4.5: Schéma de la cavitation ultrasonore [169].

e. L'ultrafiltration (UF) [147]

Les procédés de séparation par membrane, tels que l'ultrafiltration (UF) ont été utilisés, récemment, pour la séparation et la purification de polyphénols. L'ultrafiltration dépend principalement de la taille des particules des composés présents dans le mélange. La source d'entraînement pour le transport à travers la membrane est la différence de pression entre les membranes. Cette méthode fonctionne habituellement à 2-10 bars. Les membranes d'ultrafiltration peuvent séparer les molécules avec des gammes de poids moléculaire allant plus de 3000 Da jusqu'à 100 kDa.

f. L'extraction assistée par enzymes (EAE)

L'utilisation des enzymes (pectinase, cellulase) peut être considérée comme une technique alternative qui permet une destruction des cellules à température ambiante ou à température modérée (<45°C) [170]. Cette technique est utilisée pour faciliter l'extraction aqueuse des huiles de plantes mais aussi pour extraire des inulines des racines de chicorée, pour faciliter l'extraction du jus de pommes et dans plusieurs autres extractions [171].

Les inconvénients majeurs de l'extraction enzymatique sont notamment le temps de traitement souvent très long, la non disponibilité sur le marché de certaines enzymes et son coût qui reste élevé comparativement au coût des autres traitements.

g. L'extraction par effet de traitement par champs électriques pulsés (CEP)[172]

Le traitement par champs électriques pulsés est un traitement non-thermique sélectif de très courte durée, généralement de quelques microsecondes à quelques millisecondes. Le mécanisme d'action des champs électriques pulsés est basé sur la théorie de

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

l'électrocompression de la membrane cellulaire. Selon cette théorie, lorsque la cellule est placée dans un milieu extérieur, des charges de signes opposés apparaissent de part et d'autre de la membrane cellulaire. L'application d'un champ électrique pulsé d'une intensité donnée engendre l'accumulation de charges sur les surfaces membranaires et l'augmentation du potentiel transmembranaire de la membrane cellulaire. L'attraction entre les charges de signes opposés accumulées de part et d'autre de la membrane cellulaire provoque une compression de cette dernière, une force élastique tend à s'opposer à cette électrocompression. Lorsque les champs électriques pulsés appliqués dépassent une valeur critique, la force électrocompressive devient supérieure à la force élastique, on assiste alors à l'apparition de pores au niveau de la membrane cellulaire, l'électroporation est supposée être encore réversible. Mais au-delà d'une intensité de champs électriques pulsés encore plus grande, ainsi que pour de longues durées de traitement, on assiste à une intensification de la perméabilisation et à une destruction irréversible de la membrane cellulaire. Les champs électriques pulsés peuvent améliorer considérablement l'efficacité des procédés et la qualité des produits du fait de l'impact sur les membranes cellulaires.

h. L'extraction par détente instantanée contrôlée (DIC) [173]

La technologie DIC consiste en un traitement thermique de courte durée sous haute pression et haute température suivie d'une détente très rapide vers le vide (figure 4.6).

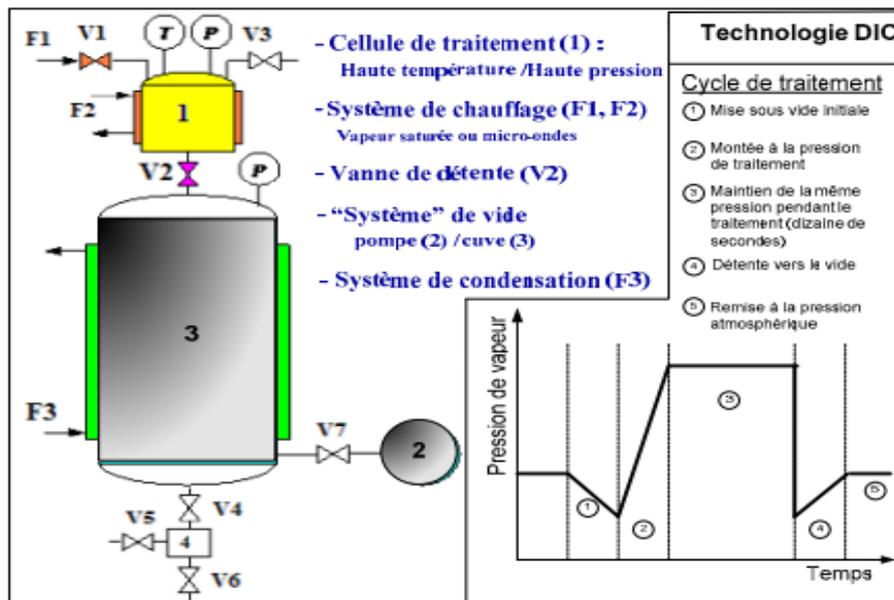


Figure 4.6: Schéma d'une unité de Détente Instantanée Contrôlée (DIC) et son cycle de traitement [150].

Ce passage provoque une forte baisse de pression au voisinage du produit. La faible pression relative en vapeur d'eau, proche de la pression du vide, implique une autovaporisation. Cette

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

vapeur produit une force mécanique capable de causer des déformations structurales du produit dont l'amplitude dépend des propriétés rhéologiques du produit qui sont fonction de son degré d'humidité et de sa température [174]. Cette technique comporte les étapes suivantes :

- élévation de température et de pression : Il s'agit de porter une substance à une température comprise entre 100°C et 120°C tout en élevant la pression généralement jusqu'à 4 ou 5 bars pendant quelques secondes seulement,
- chute abrupte vers le vide : Après une phase de stabilisation, le vide est fait dans la chambre du réacteur DIC. La structure moléculaire de la substance est modifiée, le résultat visible est une expansion de la substance traitée, par effet de "puffing".
- retour à la pression et à la température ambiante.

Le tableau 4.1 met en évidence quelques avantages et inconvénients des techniques classiques et alternatives d'extraction.

4.5. Résumé des avantages et inconvénients des différentes méthodes d'extraction des métabolites du substrat végétal

Les méthodes mentionnées aux points 4.4.1 et 4.4.2 présentent toutes des avantages et des inconvénients (tableau 4.1). Le choix de la méthode utilisée doit les prendre en considération, en fonction de la biomasse à extraire, des métabolites désirés et des moyens mis à disposition.

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

Tableau 4.1: Etude comparative entre les extractions conventionnelles et quelques méthodes innovantes d'extraction.

Méthode	Avantages	Inconvénients
Macération	Le solvant n'est pas nécessairement chauffé d'où conservation des molécules thermosensibles	Nécessite souvent plusieurs heures d'extraction, Nécessite des particules de petite taille, Toxicité des solvants en fonction des molécules à extraire, Phénomène de saturation : grandes quantités de solvants nécessaires.
Hydrodistillation	Solvant : eau (liquide ou vapeur)	Nécessite souvent plusieurs heures d'extraction, Nécessite des particules de petite taille. Perte des composés thermolabiles/volatiles. Phénomène de saturation : grandes quantités d'eau nécessaires.
Extraction par fluide pressurisé (EFP)	Réduction de la quantité de solvant utilisé, Réduction du temps d'extraction.	Pressions d'opération élevées. Température élevée : dégradation des composés thermolabiles.
Extraction par des fluides supercritiques (EFS)	Méthode sélective, Obtention de composés de grande pureté.	Coûts d'investissements, Pressions d'opération élevées, Température généralement élevée : dégradation des composés thermolabiles.
Extraction assistée par ultrasons (EAU)	Facile à mettre en œuvre, Peu consommatrice de solvant et d'énergie, Température suffisamment basse pour préserver les molécules thermolabiles. Augmentation du rendement d'extraction, Temps d'extraction réduit.	Déclin de la puissance avec le temps, Distribution non uniforme de l'énergie, Problème de répétabilité et de reproductibilité lors de l'utilisation de sonde à ultrasons, Problème non observé avec un bain à ultrasons, Moins efficace sur des cellules rondes.
Extraction assistée par microondes (EAM)	Augmentation de la pureté des extraits, Réduction du volume de solvant, Rendement élevé, Temps d'extraction réduit, Méthode écologique	Coûts d'investissement élevés, L'élévation de la température de la cellule végétale peut détruire certaines molécules thermolabiles d'intérêts pour l'industrie.
Extraction par détente instantanée contrôlée (DIC)	Extraction rapide et flexible, Extrait obtenu de bonne qualité car absence de dégradation thermique et de solvant résiduel, Réduction des rejets de solvants, d'eau usée et de matières résiduelles, Réduction de la consommation énergétique nécessaire à l'extraction des huiles essentielles.	Risque de dénaturation des composés thermolabiles.

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

Méthode	Avantages	Inconvénients
Extraction assistée par enzymes (EAE)	Augmente l'accessibilité des extractibles, Hydrolyse de la cellulose permet l'obtention de sucres cellulose fermentables.	Prix des enzymes, Prix des enzymes Deux étapes sont nécessaires : Hydrolyse de la cellulose puis extraction avec des solvants.
Extraction par effet de traitement par champs électriques pulsés (CEP)	Extraction sélective. Courte durée d'extraction Technique respectueuse de l'environnement puisqu'elle nécessite peu d'énergie et aucun intrant chimique. Pas de dégradation de molécules thermosensibles.	Cette technique conduit à l'irréversibilité des pores ce qui aboutit à l'extraction des composés cellulaires mais aussi à la mort des cellules et l'inactivation des microorganismes.
Ultrafiltration	Rapide et moins consommatrice d'énergie Respectueuse de l'environnement Séparation des composés phénoliques de haut poids moléculaire	Procédé qui manque de maturité technique pour l'extraction de composés phénoliques.

Les besoins d'utilisation des huiles essentielles et extraits de plantes dans de nombreuses et diverses industries sont tellement massifs et croissants qu'il est indispensable d'agir en vue d'aboutir à des produits de la plus haute qualité dépourvus de toute trace de solvant organique et d'aller vers l'utilisation d'une technique d'extraction préservant les composés thermolabiles et volatils, de bonne sélectivité et de faible coût ainsi de bon contenu environnemental.

4.6. Travaux récents dans le domaine d'extraction des polyphénols par solvant

Différents travaux sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques à partir de substrats végétaux ont été rapportés dans la littérature. Un recensement des études du département de génie chimique de l'ENP ainsi que ceux issus des publications récentes est donné dans le tableau 4.2. Cette étude a permis de construire une base de données pour le choix de l'intervalle de variation des paramètres technologiques en vue d'optimiser le rendement d'extraction en composés phénoliques.

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

Tableau 4.2: Travaux récents sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques.

Plante	Solvant	Conditions Opératoires	Rendement, Teneurs en composés phénoliques et Pouvoir antioxydant	Références
Garcinia mangostana	Eau	t=10 min T=100 °C S/L= 250 g / L	TP=219,37 mg EAG/g MS , IC ₅₀ = 350 µg/mL	[175]
Clitoria ternatea			TP= 76,90 mg EAG/g MS, IC ₅₀ =760 µg/mL	
Ardisia colorata			TP= 42,27 mg EAG/g MS , IC ₅₀ = 520 µg/mL	
Syzygium cumini			TP= 47,44 mg EAG/g MS, IC ₅₀ =460 µg/mL	
Plantes comestibles coréennes	Methanol	t= 3 jours T= 30°C	TP= 35,83-262,56 mg EAG/ g MS IC ₅₀ = 37-188 µg/mL	[176]
Gracilaria bursa-pastoris	Ethanol	t=4h S/L=200 g/ L T ambiante	TP=142.26 g EAG/ g MS IC ₅₀ =85 µg/mL	[177]
	Eau		TP=79.43 mg EAG/g MS	
Acacia nilotica (L.) Del	20% Eau- 80% Ethanol	T=72 h S/L=100 g/L T= 25 °C w=200 tr/min	IC ₅₀ =375,5, 486,5 et 1105 µg/mL Pour les extraits de feuilles, de gousses et d'écorce respectivement	[178]
Moringa peregrina (Forssk.) Fiori	Hexane	t=16 h. S/L=200 g/ L T=60°C	Rdt = 16,1% % pour l'extrait de graines et 6,6% pour l'extrait des feuilles	[179]
	Acétate d'Ethyle		Rdt= 6,8% pour l'extrait de graines et 5,3% pour l'extrait des feuilles	
	Méthanol		Rdt= 3,6% % pour extrait de graines et 4,2% pour l'extrait des feuilles	
Kola Nuts (Cola nitida Vent. Schott & Endl.)	50% Ethanol- 50% Eau 50%	t= 3 h T ambiante S/L= 10 g/L	TP= 350 mg EAG/ g MS TF= 1460 mg EQ/ g MS TC= 264,33 mg EC/ g MS	[180]
Maca (Lepidium Meyenii)	41% Ethanol- 59% Eau	t= 97 min S/L= 42g/ L	TP=19,61 mg/g MS	[181]
Carica papaya	Eau	t= 20 min S/L= 75 g/L T= 70 °C	TP=11,97 mg EAG/ g MV	[182]
voandzou (Vigna subterranea (L.) Verdcourt (différentes variétés)	Acétone- Eau- Acide Acétique (70% : 29,5% : 0,5%)	S/L= 0,2 g/mL t=24 h T= 4°C	TP = 0,046-4,536 mg EAG/g MS	[183]
Graines Arisarum Vulgare	70% Méthanol- 30% Eau	t= 72 h	TP = 12,34 mg EAG/g M.S TF= 3,47g EQ/g M.S DPPH= 9,9 mg EVC/ g M.S	[184]
Mandarine (Ecorces)	50% Ethanol - 50% Eau	d <1 mm S/L= 100 g/L t=60 min T =60°C	C= 0,705 g EAG/L IC ₅₀ =201 µg/mL	[185]

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

Tableau 4.2: Travaux récents sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques (Suite).

Plante	Solvant	Conditions Opératoires	Rendement, Teneurs en composés phénoliques et pouvoir antioxydant	Références
Artichaut (Cynara scolymus L.)	100% Eau 70% Ethanol 70% Méthanol 70% Acétone dans l'Eau	*Macération: t=2,5 h (2fois) S/L= 33-100 g / L T ambiante *Décoction: t=30min S/L= 25-50 g/L T ébullition	En moyenne Décoction : Rdt : 17,34% TP=17,53 mg EAG/g MS TF=6,6 mg EQ/g MS Macération: Rdt : 15,64% TP= 19,88 mg EAG/g MS TF = 8,25 mg EQ/g MS	[186]
Limnophila aromatica	Ethanol	S/L= 18 g / L t= 5 min	TP = 40,5 mg EAG/g MV TF = 31,11 mg EQ/g MV	[187]
Résidus de vitex agnus-castus	Méthanol	Cd 1: t=180min S/L=100 g/L	TP = 40,5 mg EAG/g MS	[188]
		Cd2 : t=360 min S/L=100 g/L	TF= 31,11 mg EC/g MS	
		Cd3: t=360min S/L= 300 g/L	AAO= 178,5 µl extrait /µg DPPH	
	Ethanol	Cd 4 : t= 180 min S/L=200 g/L	AN = 0,62 mg EM /g MS	
Pellicules d'arachide	50% Ethanol 50% Eau	T= 1h S/L= 250 g/L d<2mm	TP= 230 mg EAG/ g M.S	[189]
Pequi (Caryocar brasiliense Camb.)	Eau	t=1h , T=25°C	TP =265 µg EAG./ mL d'extrait	[190]
	Ethanol	t=24h , T=40°C	TP= 259 µg EAG./ mL d'extrait	
Satureja calamintha	Méthanol	t=30min S/L=100 g/L	Rdt = 8,58% TP=2,968mg EAG/g M.S TF= 1,280 mg EC /g M.S CE ₅₀ =2075µg/mL	[191]
	Eau	t= 2h S/L=200 g/L	Rdt= 22,19% TP=12,6mg EAG/g M.S TF= 3,131mg EC/g M.S CE ₅₀ =1876 µg/mL	
Santolina chamaecyparissus	Eau	t=20min S/L=100 g/L T=100°C	TP=73,84 mg EAG / g d'extrait TF=12,81 mg EC / g d'extrait IC ₅₀ = 22,64 µg/mL	[192]
	80% Méthanol -20% Eau	t=24h S/L=100 g/L T ambiante	TP= 105,88 mg EAG / g d'extrait. TF= 20,99 mg EC / g d'extrait IC ₅₀ = 16,65 µg/mL	
Bois de châtaignier	40% Ethanol- 60% Eau	T=80°C	TP= 209 mg/ EAG/g MS	[193]
Marc de café	60% Méthanol- 40% Eau	t=1,5 h S/L= 25g/L	TP=16 mg EAG/g MS	[194]

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

Tableau 4.2: Travaux récents sur l'extraction solide-liquide des composés phénoliques (Suite).

Plante	Solvant	Conditions Opératoires	Rendement, Teneurs en composés phénoliques et pouvoir antioxydant	Références
Canavalia ensiformis et Canavalia gladiata	Méthanol	t= 48 h S/L= 100g/L T=50°C	Canavalia gladiata: TP=221.3 mg EAG / g MS TF=48.15 mg EC/g MS IC ₅₀ = 59 µg/mL Canavalia ensiformis: TP= 245,5 mg EAG/g MS TF=29,3 mg EQ/g MS IC ₅₀ = 34,35 µg/mL	[195]
Tephrosia purpurea Linn. Leguminosae	Eau	S/L=500 g/L T=100°C t=2h	TP =94,4 mg EAT/ g MS TF =9,1 mg EC/g MS	[196]
	70% Méthanol-30% Eau	S/L=100 g/L T=100°C t=2h	TP= 184,4 mg EAT/ g MS TF= 15,6 mg EQ/ g MS	
Variété de raisin	95% Méthanol – 5% Acide Formique	t= 3 jours S/L= 0,5 g/mL	TP= 614-1079 mg/L	[197]
Dattes variété Ghars (Kimri I et Tmar).	80% Méthanol-20% Eau	t=5h T=23°C	TP= 89,214 mg EAG/g MS au stade Kimri I et 0,422 mg EAG/g MS au stade Tmar.	[198]
Euterpe oleracea (fruits)	70% Ethanol-30% Eau	[HCl] =0.074 mol/L T = 58 °C.	TP= 4,64 mg EAG/ g MS	[199]
Inule visqueuse	75% Acétone-25% Eau	d=112µm S/L=27g/L T=47°C Taux humidité= 4%	Rdt= 18,1% I= 92% pour 60 µg / mL d'extrait	[200]
	Méthanol / Ethanol	Dans un Soxhlet t= 8h S/L= 16g/L Taux humidité=18.48%	Rdt = 80,1% et 83,8% pour méthanol et éthanol respectivement	[201]
	Méthanol	t= 8h S/L= 15g/L Taux humidité=10,26%	Rdt = 19,92 % de M.S	[202]
	Hexane	Dans un Soxhlet T= 7h S/L= 0,015 g/mL Taux humidité = 7,46%, Patm	Rdt = 6,51% de M.S	[203]
			lit fixe avec circulation en continu du solvant t= 7h S/L = 30 g/L Taux humidité = 7,46% Patm	Rdt = 5,73% de M.S

Chapitre 4 : Extraction des composés phénoliques

4.7. Conclusion

Les procédés innovants d'extraction sont très prometteurs pour l'extraction de principes actifs à partir des végétaux. Cependant, la plupart de ces nouvelles techniques d'extraction ne sont encore conduites avec succès qu'à l'échelle laboratoire ou à l'échelle pilote et leurs applications industrielles restent cependant relativement limitées. Il faudrait encore plus de recherche pour exploiter le grand potentiel réel de ces nouvelles techniques d'extraction à l'échelle industrielle.

CHAPITRE 5:

*Approche fondamentale des
processus*

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

5.1. Introduction

Le transfert est un phénomène irréversible durant lequel une grandeur physique est transportée par le biais de molécules et qui a pour origine l'inhomogénéité d'une grandeur intensive. Cette migration de composés résulte d'un changement dans l'équilibre d'un système causé par une/des différences de potentiel(s) : différence de concentration d'une espèce d'un point à un autre pour le transfert de matière. Cette différence de concentration entraîne donc un transfert de matière jusqu'à atteindre l'uniformité de concentration. La différence de concentration est appelée: la force motrice du transfert de matière [205].

5.2. Mécanisme d'extraction et d'interaction solide/liquide

Le transfert de matière lors d'une extraction solide-fluide est souvent complexe car diffusion, convection ou réaction chimique peuvent avoir lieu simultanément. Ce phénomène peut être caractérisé par une vitesse globale gouvernée par la succession de quatre processus successifs [206] :

- transfert du solvant au sein de la matrice solide, ce qui pourrait faire intervenir, en plus de la diffusion proprement dite, des phénomènes complexes de capillarité, etc.,
- dissolution du soluté dans le solvant; il s'agit donc de mettre en solution les divers composés en s'approchant, en terme de concentration, de l'état d'équilibre qui est fonction de la nature du composé, du solvant et de la température,
- diffusion du soluté dissous dans la solution et sa migration de l'intérieur (surface d'interaction entre le solvant et les divers points de la matrice solide) vers la surface externe,
- transfert (par diffusion, mais nettement plus généralement par convection, agitation, etc.) du soluté dans la masse liquide extérieure restante du solvant.

La vitesse et la cinétique de ces divers processus intervenant d'une façon successive évoluent différemment selon les conditions opératoires incluant la nature du solvant, la température à laquelle se déroule l'opération, les molécules à extraire (soluté), la structure de la matière solide, l'agitation et le type des ressources mécaniques et/ou thermiques (micro-ondes, etc.), etc. L'opération a ainsi pour processus limitant, schématiquement, le processus le plus lent.

5.2.1. Identification et intensification du processus limitant

a. Solubilisation de l'extrait dans le solvant liquide

Dans une opération d'extraction, la mise en solution des molécules à extraire (soluté) peut facilement être le processus limitant : il suffirait de choisir un mauvais solvant et une mauvaise température d'extraction. Dans une telle situation caractérisée par une très faible solubilisation du soluté dans le solvant liquide, le solvant entrerait relativement aisément dans

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

la matrice solide, le gradient de concentration en soluté dans la matrice solide et dans le milieu extérieur finirait par tendre vers zéro et le processus d'extraction serait donc complètement gouverné par la solubilisation du soluté dans le solvant [207].

L'intensification d'une telle étape consiste à faire le bon choix en termes de solvant et de température d'expérience. Cette dernière doit souvent être la plus élevée possible tout en étant en dessous de la température d'ébullition et du domaine de dégradation des molécules à extraire. Le processus de « solubilisation » du principe actif recherché n'est généralement pas limitant, bien au contraire, il pourra souvent être pratiquement considéré en tant que processus immédiat (rapide).

b. Transfert du soluté dissous vers l'extérieur

Le transfert du soluté, vers le milieu extérieur, peut tout autant se faire par diffusion que par convection. En l'absence de tout phénomène d'agitation par exemple, il se peut que le processus limitant de l'opération d'extraction soit le transfert du soluté de la surface du solide vers le solvant extérieur. Dans un tel cas de figure, le solvant aurait rapidement pénétré la matrice solide et dissout le soluté; la concentration du soluté à l'intérieur du solide serait homogène. Là, l'opération d'extraction s'opérerait à la vitesse de la diffusion du soluté de la surface externe du solide loin dans le solvant environnant. Pour palier ce « problème » et opérer une intensification adéquate, il faudrait modifier la nature du transfert du soluté dans le milieu extérieur pour qu'il ne soit plus de type diffusionnel mais plutôt convectif. Il suffit alors de réaliser une « bonne » agitation du milieu « solvant » extérieur. La résistance externe au transfert devient ainsi négligeable.

Nous pouvons ainsi dire que le flux de matière est confronté à deux obstacles, l'un externe et l'autre interne. Ces oppositions au transfert définissent ainsi, les résistances diffusionnelles interne et externe.

Le nombre de Biot pour le transfert de masse (L) est introduit pour pouvoir comparer l'importance relative de ces deux résistances diffusionnelles et donne ainsi une idée sur l'état d'homogénéité du système. Si « a » est la dimension caractéristique de la phase interne (solide), le nombre de Biot qui désigne le rapport des deux résistances au transfert est exprimé par la relation 5.1.

$$L = aK/D \quad (5.1)$$

Avec:

a : le rayon de la particule (m) (cas d'une sphère),

K : le coefficient global de transfert de masse (m/s) ,

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

D : le coefficient de diffusion du soluté (m^2/s).

En pratique, le nombre de Biot est le plus souvent supérieur à 200. On peut donc ainsi négliger la résistance au transfert à l'interface par rapport à celle à l'intérieur du solide. C'est pour cette raison que l'extraction est souvent effectuée en présence d'agitation [208].

5.2.2. Caractéristiques du transfert de matière [205, 209].

➤ La concentration

La concentration d'un mélange (ρ, C) et de ses composants (ρ_i, C_i) peuvent être exprimées en termes de masse et de nombre de mole. Elle est définie par le rapport quantité de matière (kg, mole) par le volume total (m^3).

➤ La vitesse

La vitesse d'un mélange en vrac et de ses composants peut être mesurée par rapport aux coordonnées fixes. En outre, la vitesse des composants peut également être mesurée par rapport à la vitesse globale. La vitesse de masse du mélange $*V*$ (m/sec) par rapport aux coordonnées fixes est définie par la relation 5.2.

$$V = \sum_{i=1}^n w_i v_i = \sum_{i=1}^n \frac{m_i}{m} v_i = \sum_{i=1}^n \frac{\rho_i}{\rho} v_i \quad (5.2)$$

Avec:

v_i : La vitesse de la composante i par rapport aux coordonnées fixes,

w_i : La fraction massique du composé i .

La vitesse massique du constituant i par rapport à la vitesse apparente du mélange (m/sec) s'exprime par le biais de la relation 5.3.

$$u_i = v_i - v \quad (5.3)$$

➤ Le flux

Le flux est la quantité de matière par unité de temps et de surface. Le flux massique en masse ($kg / m^2 \cdot s$) d'un mélange par rapport aux coordonnées fixes s'exprime par l'équation 5.4.

$$N_i = \rho v = \sum_{i=1}^n \rho_i v_i \quad (5.4)$$

Les flux de diffusion des constituants i du mélange par rapport à la vitesse apparente moyenne est j_i ($kg / m^2 \cdot s$), équation 5.5.

$$j_i = \rho_i u_i = \rho_i (v_i - v). \quad (5.5)$$

D'où la relation 5.6:

$$N_i = \rho w_i (v_i - v) + \rho w_i v = J_i + \rho w_i v \quad (5.6)$$

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

5.3. Coefficients de transfert de matière [209, 210]

5.3.1. Coefficients de transfert de masse

Le flux de transfert de masse peut être considéré comme proportionnel à la différence de concentration entre l'interface et le fluide en vrac. Il peut être exprimé par l'équation 5.7

$$N_A = k * \Delta c \quad (5.7)$$

Avec:

N_A : le flux de matière du constituant A (kg/m/s ou mole/m/s),

k : le coefficient de transfert de matière (m/s),

ΔC : le gradient de concentration (kg/m³ ou mole/m³).

5.3.2. Coefficient de diffusion

Le coefficient de diffusion D exprime le rapport du flux de transfert des particules diffusantes, perpendiculairement à une unité de surface et le gradient de concentration.

Généralement, la première loi de Fick s'écrit sous la forme de l'équation 5.8.

$$J_A = -D \text{ grad}(C) \quad (5.8)$$

Avec:

C : la densité molaire (kmole/ m³),

J : le flux de diffusion du constituant A (kg/m²/s¹ ou mole/m²/s¹),

D : le coefficient de diffusion (m²/s). Il dépend de la pression et de la température. Les coefficients de diffusion peuvent être trouvés dans la littérature ou calculés à l'aide de corrélations.

5.4. Equations gouvernantes du transfert de masse

5.4.1. Équation de continuité [211,212].

Pour retrouver l'équation de continuité, il est nécessaire d'établir un bilan de matière sur un élément de fluide de volume dV .

[Nombre de moles de A entrant dans le volume dV] - [Nombre de moles de A sortant du volume dV] +/- [Nombre de moles de A produites ou consommées dans le volume dV] = [Nombre de moles de A accumulées dans le volume dV].

Le taux d'accumulation de la masse de fluide en dV pendant l'intervalle de temps dt est égal à l'augmentation nette de la masse de fluide circulant dans dV à travers trois paires d'éléments de surface parallèles perpendiculaires aux coordonnées x , y et z . L'augmentation de masse de fluide circulant dans dV , à travers une paire d'éléments de surface parallèles perpendiculaires aux coordonnées x , $dy dz$, peut être exprimée par l'équation (5.9).

$$\{\rho u|_x - \rho u|_{x+dx}\} dydz = \left\{ \rho u - \left(\rho u + \frac{\partial \rho u}{\partial x} dx \right) \right\} dydz = - \left(\frac{\partial \rho u}{\partial x} \right) dV \quad (5.9)$$

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

Par conséquent, la loi de conservation de la masse pour un petit élément de volume dV ($dx \, dy \, dz$) (figure 5.1) peut être exprimée par l'équation 5.10.

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \frac{\partial \rho u}{\partial x} + \frac{\partial \rho v}{\partial y} + \frac{\partial \rho w}{\partial z} = 0 \quad (5.10)$$

Avec:

ρ : la masse volumique du fluide (kg/m^3),

u, v, w : les composantes de la vitesse (vitesse barycentrique) du fluide dans les coordonnées x, y et z (m/s).

L'équation (5.10) est appelée équation de continuité. Dans le cas de fluides incompressibles, dont la densité est constante, l'équation de continuité peut être simplifiée (équation 5.11).

$$\frac{\partial \rho u}{\partial x} + \frac{\partial \rho v}{\partial y} + \frac{\partial \rho w}{\partial z} = 0 \quad (5.11)$$

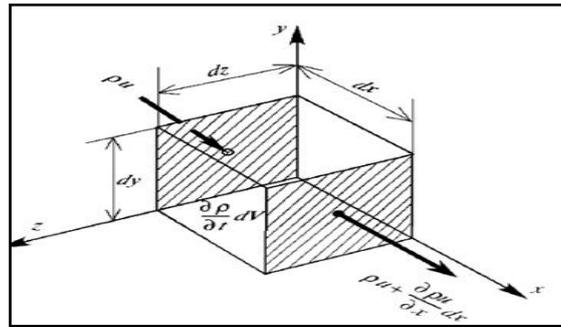


Figure 5.1: Conservation de la masse [210].

5.4.2. Lois de diffusion de Fick [212]

La diffusion moléculaire est souvent régie par les deux lois de Fick. La première loi exprime, en régime permanent, l'évolution d'un ensemble hétérogène d'atomes mal répartis dans l'espace vers un état d'équilibre plus stable. Elle énonce que le flux de diffusion est proportionnel au gradient de concentration. Ainsi, à température et pression constantes, la densité de flux de transfert s'exprime comme suit (équation 5.12):

$$J_A = -c D \frac{dx_A}{dy} \quad (5.12)$$

Avec:

c : la densité molaire (kmole/m^3),

D : la diffusivité (m^2/s),

x_A : la fraction molaire de la substance A ,

J_A : le flux de diffusion du composant A par unité de surface ($\text{kmole}/\text{m}^2/\text{s}$),

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

y : la distance dans la direction de la diffusion (m).

En régime transitoire, la seconde loi de Fick exprime la variation de la concentration C en fonction du temps. Cette loi découle de l'équation de conservation de matière (équation 5.13).

$$E_n - S_0 \pm R_0 = A_c \quad (5.13)$$

Avec:

E_n : le flux entrant,

S_0 : le flux sortant,

R_0 (+) : la régénération, (-) disparition,

A_c : l'accumulation.

Nous avons, par ailleurs, l'équation 5.14 suivante :

$$E_n - S_0 = \int n(C_i v_i) dS \quad (5.14)$$

En absence de réaction chimique ($R_0=0$), d'où l'équation 5.15.

$$A_c = \int \frac{\partial C_i}{\partial t} dV \quad (5.15)$$

L'équation du bilan s'écrit alors sous la forme de la relation 5.16.

$$\int n(C_i v_i) dS = \int \frac{\partial C_i}{\partial t} dV \quad (5.16)$$

En appliquant le théorème de Green Ostrogradsky [213], nous pouvons remplacer l'intégrale de surface par une intégrale de volume et l'équation 5.16 pourra s'écrire sous la forme de la relation 5.17.

$$\int \text{div} (C_i v_i) dV = \int \frac{\partial C_i}{\partial t} dV \quad (5.17)$$

Ou encore sous la forme de l'équation 5.18.

$$\text{div} N_i = \frac{\partial C_i}{\partial t} \quad (5.18)$$

Dans le cas où le déplacement de i est dû à la diffusion seule, la deuxième loi de Fick s'écrit sous la forme de l'équation 5.19.

$$-\text{div} (D \text{grad} C_i) = \frac{\partial C_i}{\partial t}$$

(5.19)

La densité du flux de transfert du constituant i est donnée par les relations 5.20 et 5.21.

$$N_i = J_i + T_i \quad (5.20)$$

$$N_i = -D \text{grad} (C_i) + C_i V \quad (5.21)$$

Avec:

J_i : la densité de flux de diffusion,

T_i : la densité de flux de transport,

C_i : la concentration du constituant i .

Chapitre 5 : Approche fondamentale des processus

5.5. Conclusion

L'extraction solide-liquide à partir d'une matrice végétale est une opération unitaire complexe en raison de la nature même du substrat. Les résistances au transfert de matière, dues à la structure végétale et à la localisation des composés recherchés, peuvent être déterminantes. L'étude passe généralement par des essais pilotes, souvent coûteux. La description et la modélisation des phénomènes de transfert de soluté répondent à deux objectifs : l'établissement d'un modèle de représentation de ceux-ci et l'intégration des connaissances ainsi acquises dans un modèle global pour constituer un outil complet de simulation du comportement du contacteur solide-liquide. Cela permet aussi de mieux concevoir, d'optimiser, de faire fonctionner, de contrôler et d'évoluer les procédés de transformation de la matière sans oublier son importance dans l'étude économique d'un procédé.

Partie 2 :

Matériels et méthodes

CHAPITRE 6:

*Matériels, protocoles et
techniques d'analyse et
d'identification*

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

6.1. Matériel végétal

6.1.1. Station d'étude

Dans le cadre de cette thèse de Doctorat, nous nous sommes intéressées à l'inule visqueuse provenant de la forêt de Ben Aknoun située à 20 kilomètres au Sud-Ouest d'Alger.

6.1.2. Préparation de la matière végétale

a. Cueillette

La cueillette de la plante a été effectuée par temps sec, dès que la rosée du matin s'est évaporée. Une plante humide peut demander jusqu'au double du temps de séchage. Les feuilles ont été cueillies à trois périodes différentes : Juillet 2014, Décembre 2014 et Septembre 2018.

b. Séchage et broyage

Les feuilles utilisées ont été réparties en couches minces dans des casiers et laissées à l'air libre pendant deux mois dans une pièce sombre ventilée à une température de 15°C pour augmenter la durée de vie et inhiber la dégradation enzymatique et la croissance bactérienne. La matière totale utilisée, pour cette étude, est de 2,5 kg soit 42 casiers remplis. Les feuilles ainsi séchées sont alors broyées à l'aide d'un moulin à café de type Moulinex. Un casier rempli de feuilles sèches donne 60 g de matière végétale broyée (figure 6.1).



Figure 6.1 : Etapes de préparation de la matière première.

6.2. Réactifs chimiques et standards analytiques

Les réactifs chimiques ainsi que les standards analytiques, utilisés dans cette étude, sont regroupés dans le tableau 6.1.

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

Tableau 6.1: Réactifs chimiques et standards analytiques employés.

Réactif chimique/Standards analytiques		Caractéristiques		Provenance
Nom scientifique	Formule chimique	Masse volumique (g/cm ³)	Solubilité dans l'eau (20°C) (g/L)	
Acide Ascorbique	C ₆ H ₈ O ₆	1,65	333	Sigma-Aldrich-Riedel de Haën (Sigma-Aldrich GmbH, Sternheim, Allemagne)
Acide Gallique	C ₇ H ₆ O ₅	1,69	11,9	
Carbonate de Sodium	Na ₂ CO ₃	2,53	300	
Chlorure d'Aluminium	AlCl ₃	2,44 à 2,48	458	
2, 2-diphényl-1-picrylhydrazyle (DPPH)	C ₁₈ H ₁₂ N ₅ O ₆	1,40	insoluble	
Hydrogénocarbonate de Sodium pH 10	NaHCO ₃	2,20	87	
Hydrogénophthalate de Potassium pH 4	C ₈ H ₅ KO ₄	1,632	80	
Hydroxyde de Sodium	NaOH	2,1	1090	
Méthanol	CH ₃ OH	0,79	/	
Réactif phénol Folin Ciocalteu	Mélange d'acide phosphotungstique (H ₃ PW ₁₂ O ₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H ₃ PMO ₁₂ O ₄₀)	1,24	/	
Quercétine	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	1,79	0,06	Cheminova (Cheminova Internacional SA, Madrid, Espagne).
Chlorure d'Hydrogène	HCl	1,19	720	
Xylène	C ₈ H ₁₀	0,88	insoluble	
Acétate d'Ethyle	C ₄ H ₈ O ₂	87	0,92	Prolabo (Merck) (Paris, France)

6.3. Caractérisation de la matière végétale

6.3.1. Etude granulométrique

L'essai est effectué à l'aide d'une série de tamis de dimension *d*, d'ouvertures allant de 1400µm à 112 µm. Une prise d'essai de l'inule visqueuse broyée, de masse *m* égale à 105 g est placée sur le premier tamis de la pile qui est secouée à la main pendant un temps déterminé. Le tamisage, sur la série de tamis utilisés, a donné lieu aux résultats du tableau 6.2.

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

Tableau 6.2: Analyse granulométrique.

d_p (μm)		AI (amplitude de l'intervalle I)	d_i (moyen)	Retenu (g)	Tamisat (g)	Fraction cumulée (g)	Fraction cumulée (%)
d_{\min}	d_{\max}						
0	112	112	56	3	99	3	2,94
112	160	48	136	14	88	17	16,67
160	224	64	192	7	95	24	23,53
224	250	26	237	12	90	36	35,29
250	335	85	292,5	23	79	59	57,84
335	1120	785	727,5	35	67	94	92,16
1120	1250	130	1185	5	97	99	97,06
1250	1400	150	1325	3	99	102	100,00

L'exploitation de ces résultats a permis d'une part de tracer les courbes de fréquences cumulées (figure 6.2) et de fréquences relatives (figure 6.3) et d'autre part de déterminer ainsi le diamètre moyen des particules $d_f(\text{mode})$ qui est de $237 \mu\text{m}$.

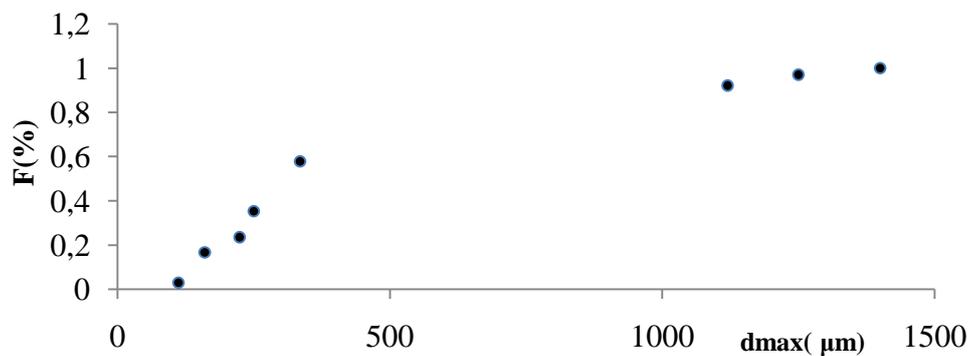


Figure 6.2: Courbes des fréquences cumulées(PPQ).

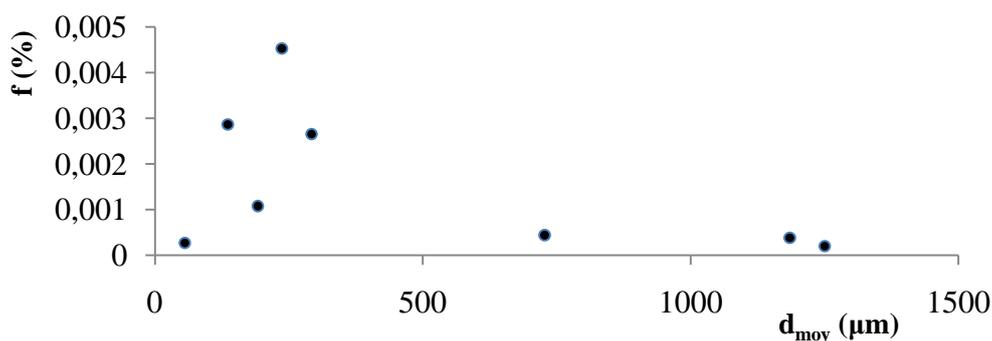


Figure 6.3: Courbes des fréquences relatives.

6.3.2. Choix du diamètre des particules pour l'extraction solide-liquide

L'étude de l'influence du diamètre des particules sur le rendement d'extraction a été rapportée par plusieurs auteurs [124, 214, 215]. Les résultats obtenus montrent que le rendement d'extraction est plus important pour les particules fines [215]. Ceci pourrait

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

s'expliquer, dans ce cas, par une surface de contact plus grande qui pourrait induire un plus grand nombre de pores offerts et une meilleure diffusion interne. Cependant, de trop petites particules pourraient donner naissance à des zones sèches privées de l'accès du solvant et à des zones de stagnation de solvant. Voilà des effets qui diminuent l'efficacité des appareils et par la même le rendement d'extraction. Dans le cas de notre recherche, il nous a été difficile de travailler avec les particules fines de diamètre égal à 112 μm . En effet, la fraction cumulée pour les plus petits diamètres (rendement plus élevé théoriquement) est largement inférieur à 50% (tableau 6.2). La masse de matière végétale nécessaire pour les opérations d'extraction serait donc trop importante pour ces faibles diamètres. En plus, avec un volume d'eau d'extraction important (1500 mL dans notre cas), la masse du substrat végétal nécessaire pour l'extraction est très élevée. En effet, pour un rapport solide/liquide de 50 g/L, la masse de matière végétale est de 75g soit 2,5 kg pour des particules de diamètre inférieur à 112 μm . Par conséquent, nous avons travaillé avec la totalité de la matière broyée dont le diamètre moyen a été estimé à 237 μm (l'utilisation de particules de diamètre inférieur à 112 μm nécessite 85 kg de matières broyée au lieu de 2,5 kg pour toute la série d'expériences).

6.3.3. Détermination du taux d'humidité

La détermination de ce paramètre s'est faite par la méthode de Dean Stark [216]. L'appareil de Dean Stark est un montage de verrerie de laboratoire utilisé en chimie des synthèses pour extraire l'eau (ou parfois d'autres liquides) d'un milieu réactionnel (figure 6.4).

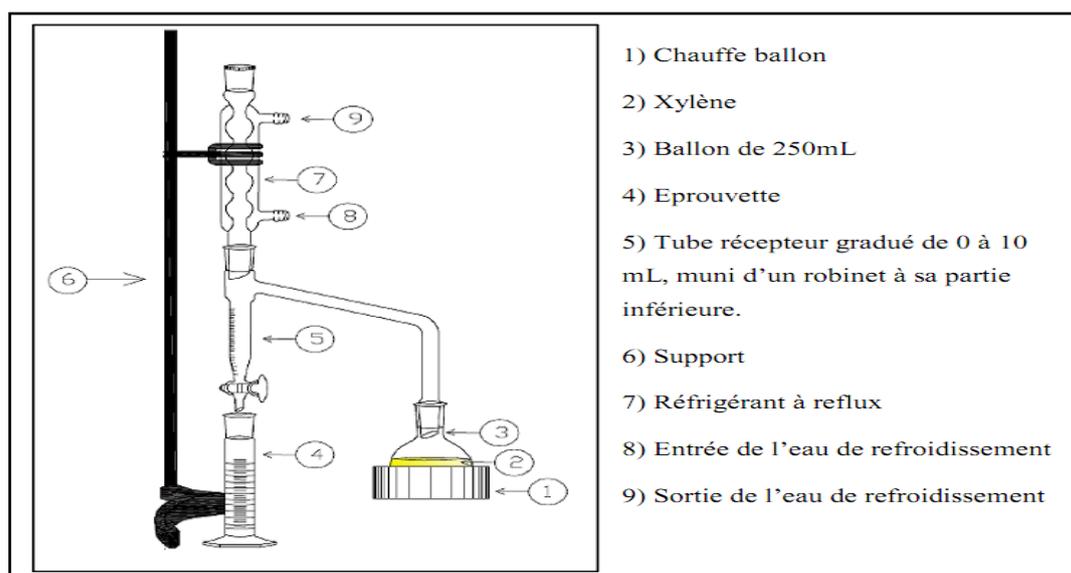


Figure 6.4: Dispositif de Dean et Stark pour la mesure du taux d'humidité [216].

Ce dispositif est utilisé en association avec un réfrigérant à eau (7) et un chauffe-ballon (1) afin d'éliminer l'eau par chauffage à reflux. Au cours du chauffage, des vapeurs contenant le

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

solvant et l'espèce à extraire montent jusqu'au condenseur et, une fois liquéfiées, tombent dans le cylindre gradué (5). A l'intérieur de celui-ci, les liquides non-miscibles se séparent en deux phases. Lorsque la phase supérieure (moins dense) (le Xylène) atteint le niveau du bras, elle coule dans celui-ci et retourne dans le ballon réacteur (3), alors que la phase inférieure reste dans le cylindre (l'eau) (5). On attend que les phases se séparent bien ensuite on lit sur les graduations le volume d'eau contenue dans la matière végétale. On lit la température à laquelle la lecture est faite et on mesure la masse volumique de l'eau à cette température.

Le calcul du taux d'humidité se fait par le biais de la relation 6.1.

$$\text{Taux d'humidité(\%)} = \frac{V_{\text{eau}}}{m_{\text{matière végétale}}} \cdot \rho_{\text{eau}} \cdot 100 \quad (6.1)$$

Avec:

T : la température de mesure (20°C),

ρ_{eau} : la masse volumique de l'eau mesurée à 20°C et égale à 0,998 g/mL,

m : la masse de la matière végétale mise dans le ballon (g),

V_{eau} : le volume d'eau lu (mL).

A 10 g de poudre de feuilles d'inule visqueuse, introduits dans une fiole de 250 ml, nous avons ajouté du Xylène jusqu'à émersion. Le volume de Xylène utilisé est de 238 mL en moyenne. Le mélange est porté alors à ébullition, l'opération s'arrêtant quand le volume d'eau recueilli dans le décanteur demeure constant.

Les résultats obtenus pour les deux essais effectués sont mentionnés dans le tableau 6.3.

Tableau 6.3: Taux d'humidité de la poudre d'inule visqueuse.

Volume d'eau (mL)	Taux d'humidité (%)
0,22	2,19
0,19	1,89

L'humidité de la matière végétale est de 2,04 %. La matière sèche représente 98%.

6.3.4. Détermination de la masse volumique

La masse volumique a été déterminée en introduisant une masse connue m_0 de poudre d'inule visqueuse dans une éprouvette de volume V_p de 10 cm³. Le volume du vide de l'éprouvette a été rempli avec du n-Heptane de masse volumique ρ_H égale à 0,680 g/cm³. Le n-Heptane a été choisi pour sa faculté à occuper le vide entre les particules sans mouiller le solide. La masse de n-Heptane m_H ajoutée a été quantifiée par pesée différentielle de l'éprouvette avant et après remplissage. La masse volumique est calculée en utilisant la relation (6.2).

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

$$\rho = \frac{m_0}{V_{ep} - V_H} \quad (6.2)$$

Avec:

ρ : la masse volumique des feuilles de l'inule visqueuse (g/cm^3),

ρ_H : la masse volumique du n-Heptane (g/cm^3),

m_0 : la masse de poudre d'inule visqueuse dans l'éprouvette (g),

m_H : la masse de n-Heptane ajouté dans l'éprouvette (g),

V_{ep} : le volume de l'éprouvette (cm^3),

Quatre essais ont été réalisés pour la mesure de la masse volumique de l'inule visqueuse sèche. Les résultats sont regroupés dans le tableau 6.4.

Tableau 6.4: Masse volumique des feuilles de l'inule visqueuse.

Paramètres	Essai 1	Essai 2	Essai 3	Essai 4
$\rho \text{ (g/cm}^3\text{)}$	0,8886	0,9167	0,8729	0,9304
$\rho \text{ (g/cm}^3\text{)}$	0,9022			

6.4. Procédure d'extraction

Dans le cadre de notre étude, nous avons utilisé, pour l'extraction des principes actifs, la méthode d'extraction par solvant. Nous cherchons, par le présent travail, à l'inscrire dans une vision de chimie verte et ce, en optimisant les paramètres technologiques dans le but d'augmenter la sélectivité et le rendement de l'extraction tout en diminuant les dépenses énergétiques, le temps d'extraction et l'empreinte écologique.

L'extraction par l'eau des polyphénols de l'inule visqueuse a été réalisée en mode batch dans un réacteur de 2L muni d'un agitateur à ancre (Model RW 28 Basic, IKA) (figure 6.5). Le volume d'eau distillée choisi est de 1500 mL. Les extractions ont été réalisées sous différentes conditions opératoires de température, de rapport solide /liquide et de vitesse d'agitation. Les extraits obtenus sont ensuite filtrés (sur papier filtre Whatman) et analysés.

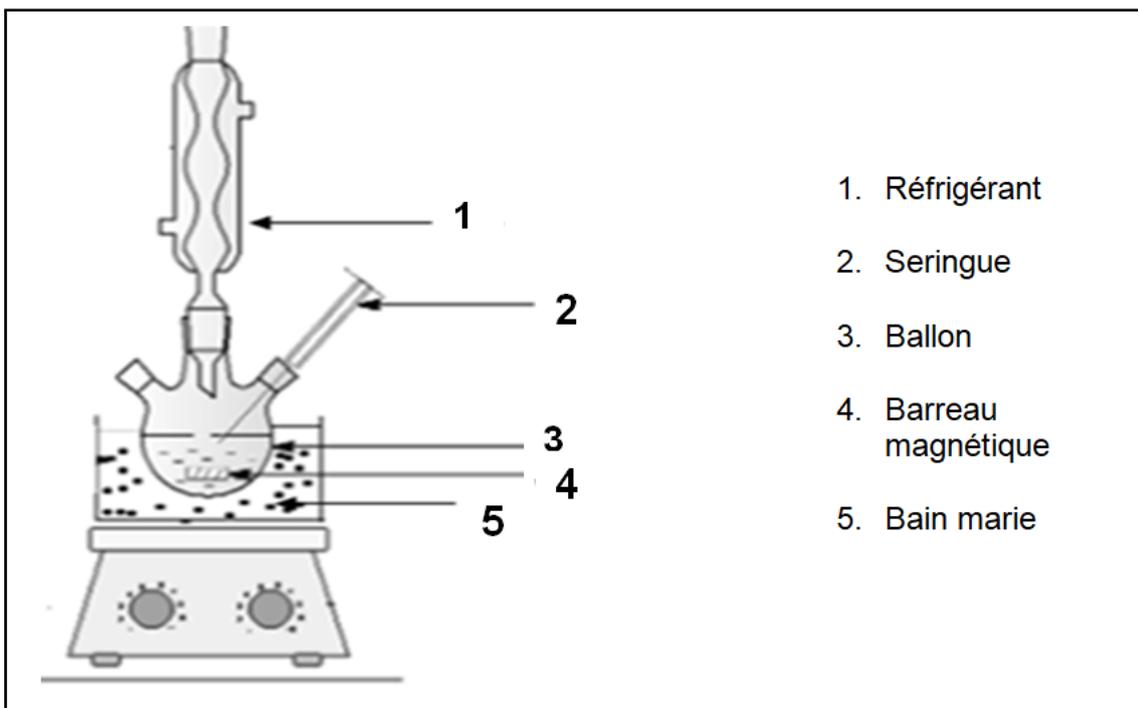


Figure 6.5 : Dispositif de l'extraction solide-liquide utilisé.

6.5. Méthodes analytiques de dosage des composés phénoliques

6.5.1. La spectrophotométrie UV-visible

Le dosage des composés phénoliques utilise très fréquemment leur spectre d'absorption soit dans le visible pour les anthocyanes, soit dans l'UV pour la plupart des autres composés, en choisissant pour chacun d'eux la longueur d'onde d'absorption maximale pour les raisons suivantes [217].

- possibilité de comparaison des solutions de faibles nuances,
- bande passante de monochromateur doit être minimale.
- loi de Beer Lambert doit être maximale.

La concentration du composé phénolique en solution est déduite en utilisant la loi classique de Beer-Lambert (équation 6.3) qui lie cette concentration C en mole/L à la densité optique DO mesurée sur le spectre d'absorption.

$$DO = \varepsilon C d \quad (6.3)$$

Avec:

ε : le coefficient d'extinction du composé considéré à la longueur d'onde utilisée pour la mesure,

d : la longueur de la cuve de mesure (cm).

Pour une bonne mesure de l'absorbance, les solutions doivent être diluées [217] car :

- La loi de Beer Lambert est applicable pour des solutions diluées,
- Deux problèmes peuvent se poser à des concentrations élevées :

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

- les molécules en solution forment des agrégats qui n'absorbent pas de la même façon que la molécule isolée. En particulier, des phénomènes de diffusion peuvent apparaître selon la taille des agrégats,
- la sensibilité du détecteur étant limitée, pour des solutions concentrées, le photo détecteur ne reçoit pas assez de lumière (l'intensité transmise devient trop faible) pour donner une valeur fiable de l'absorbance. On dit que le spectrophotomètre « sature ». On considère que la sensibilité du photo détecteur des spectrophotomètres utilisés dans les laboratoires de recherche ne permet pas d'obtenir des valeurs fiables pour des absorbances supérieures à 2.

6.5.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu décrite par [218].

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par Singleton et Rossi, en 1965 [219].

Brièvement, dans des tubes à hémolyse en verre contenant des volumes de 200 μl de solutions d'extrait, prises à différentes concentrations, est ajouté 1 ml de réactif Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Quatre minutes plus tard, on incorpore aux différents mélanges 800 μl d'une solution de Carbonate de Sodium à 7,5 %. Les tubes sont agités et conservés pendant 120 min à température ambiante et dans l'obscurité. L'absorbance est lue à 765 nm.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'Acide Gallique à différentes concentrations (0 à 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$). L'Acide Gallique est le standard utilisé pour établir la courbe d'étalonnage à partir de laquelle la concentration des polyphénols totaux des extraits est calculée. Dans notre cas, elle est représentée par la courbe de la figure 6.6. Le résultat est exprimé en μg d'équivalents d'Acide Gallique par mL. Le blanc contient le solvant (eau distillée) et toutes les espèces présentes en solution (Folin Ciocalteu et la solution de Carbonate de Sodium) excepté le composé d'intérêt (Acide Gallique (AG)).

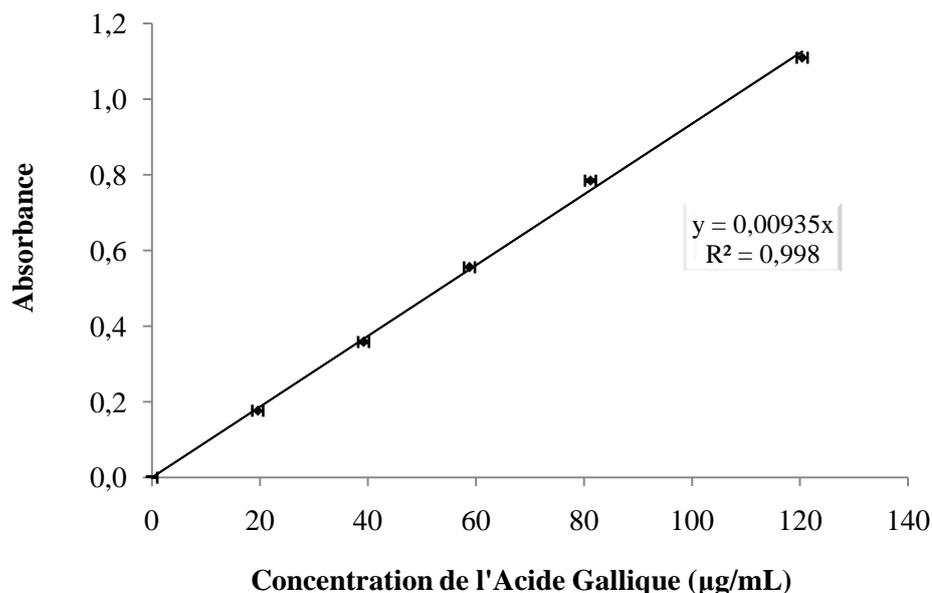


Figure 6.6: Courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique.

6.5.3. Dosage des flavonoïdes

La quantification des flavonoïdes a été effectuée par la méthode décrite par Lamaison et Carnat en 1990 [220]. Les flavonols réagissent avec l' AlCl_3 pour donner un chromophore mesurable à 430nm. La méthode est standardisée par rapport à la Quercétine. Pour ce faire, un volume de 1 mL de chaque extrait et du standard (dissous dans le Méthanol) avec les dilutions convenables a été ajouté à un volume égal d'une solution d' AlCl_3 (2% dans le Méthanol). Le mélange a été vigoureusement agité et l'absorbance à 430 nm a été lue après 10 minutes d'incubation. La quantification des flavonoïdes a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage que nous avons établie (figure 6.7) à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent de Quercétine par g de matière sèche (mg QE/ g MS).

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

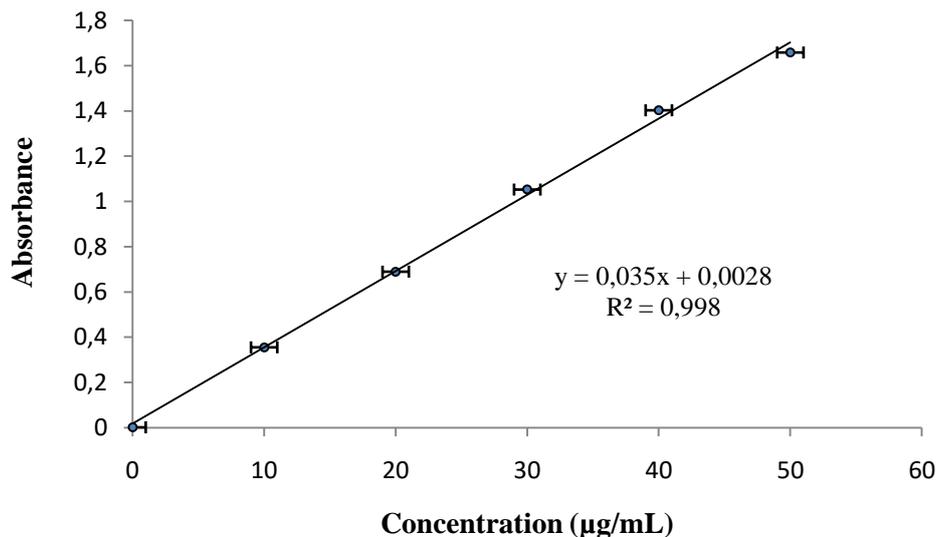


Figure 6.7 : Courbe d'étalonnage de la Quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

6.5.4. Dosage des anthocyanes

La teneur en anthocyanes a été déterminée par la méthode décrite par Di Stefano et al. en 1989 [221].

Pour ce faire, à 1 mL d'extrait dilué avec un mélange Ethanol-Eau, pris dans un rapport volumique 70/30, a été ajouté 1 ml d'une solution de HCl (1M). Après mélange de la solution ainsi obtenue, nous déterminons la teneur en anthocyane par spectrophotométrie UV à la longueur d'onde de 540 nm.

Cette teneur en anthocyanes est calculée par l'expression 6.4.

$$TA = 16,17. Abs. D \quad (6.4)$$

Avec:

D : le facteur de dilution,

TA : la teneur en anthocyanes exprimée en milligramme d'équivalent de Malvidin par g de matière sèche (mg EM/ g MS).

6.5.5. Mesure du pouvoir antiradicalaire (test de DPPH)

Pour l'évaluation de l'activité antioxydante, deux approches sont appliquées: d'une part, la détermination de la réduction relative du radical DPPH• (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) à un temps de référence ou la détermination de la quantité d'antioxydant nécessaire pour réduire 50 % de DPPH et d'autre part, le suivi de la cinétique de la réduction [222, 223]

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

a. Première approche

L'activité est définie par l'indice de la réduction de l'activité antiradicalaire ou pourcentage d'inhibition où l'absorbance du mélange réactionnel, qui contient le radical libre et l'échantillon de l'antioxydant, est reliée avec l'absorbance du mélange sans aucun antioxydant (solution témoin ou contrôle) à un temps t [224 ,225].

➤ Détermination du pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition (I%) est calculé selon la relation 6.5.

$$I(\%) = \frac{(A_{DPPH} - A_{Ech})}{A_{DPPH}} \times 100 \quad (6.5)$$

Avec :

A_{DPPH} : l'absorbance du DPPH,

A_{Ech} : l'absorbance de l'échantillon.

Le pourcentage d'inhibition I(%) témoigne seulement de la capacité de l'échantillon, à une concentration fixée, à réduire ou non les radicaux. Dans beaucoup de cas, l'augmentation de la concentration de l'antioxydant amène l'augmentation de ces indices relatifs [223].

Pour s'affranchir de l'influence de la concentration, dans la majorité des études, la réactivité est estimée par la concentration inhibitrice IC_{50} (ou $\frac{1}{IC_{50}}$) de l'antioxydant, qui correspond à une réduction de 50% de l'activité (de l'absorbance) du DPPH dans le milieu réactionnel [222].

La capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que sa IC_{50} est petite. L'indice IC_{50} indique la concentration de l'antioxydant nécessaire à la décroissance de la concentration initiale du DPPH de 50%. Cependant, cet indice ne prend pas en considération l'influence de la concentration sur le temps de la réaction [223].

➤ Détermination de la concentration inhibitrice IC_{50}

La détermination de IC_{50} passe par le tracé de l'évolution du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration de l'échantillon. La concentration inhibitrice IC_{50} est alors déterminée graphiquement au point $I = 50\%$. Elle s'exprime en $\mu\text{g/mL}$.

➤ Détermination de l'indice d'activité anti-radicalaire (IAA)

La détermination de l'indice d'activité anti-radicalaire (IAA) nécessite l'estimation de la concentration finale de la solution de DPPH dans la cellule, au moment de la mesure de l'absorbance. Cette concentration est déterminée par la courbe d'étalonnage du DPPH donnant l'évolution de l'absorbance « A » en fonction de la concentration et ce, pour différentes solutions de DPPH. L'indice d'activité anti-radicalaire (IAA) s'exprime sous la forme de la relation 6.6.

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

$$IAA = \frac{C_{DPPH}}{IC_{50}} \quad (6.6)$$

Avec :

C_{DPPH} : la concentration de la solution de DPPH dans la cellule au moment de l'analyse ($\mu\text{g/mL}$),

IC_{50} : la concentration inhibitrice à 50% ($\mu\text{g/mL}$).

L'indice d'activité anti-radicalaire est une constante, indépendante des concentrations du DPPH et de l'échantillon. Selon Scherer et Godoy (2009) [222].

- $IAA < 0,5$, faible activité antiradicalaire,
- $1 < IAA < 2$, forte activité antiradicalaire,
- $IAA > 2$, très forte activité antiradicalaire.

b. Deuxième approche

Dans cette 2^{ème} approche, pour mieux caractériser le pouvoir antiradicalaire, des paramètres cinétiques sont introduits comme par exemple le $t_{CE_{50}}$ qui exprime le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE_{50} .

➤ Détermination de la concentration effective CE_{50}

La concentration effective CE_{50} , exprimée en mg d'extrait par g de DPPH utilisé, est déterminée à partir de la courbe donnant l'évolution du $DPPH_{rés}$ en fonction du rapport massique R_m (mg antioxydant (AO)/g DPPH), correspondant à différentes concentrations de l'échantillon et de la masse de DPPH et cela, en posant $DPPH_{rés}$ (DDPH résiduel) = 50%. Le DDPH résiduel est calculé par le biais de l'expression 6.7.

$$DPPH_{rés} (\%) = \frac{C_{DDPH_{\acute{e}q}}}{C_{DDPH_0}} * 100 \quad (6.7)$$

Les valeurs de la concentration initiale du DPPH (C_{DDPH_0}) et la concentration du DPPH à l'équilibre ($C_{DDPH_{\acute{e}q}}$) sont estimées en se référant à une courbe d'étalonnage donnant l'évolution de l'absorbance de la solution de DPPH en fonction de sa concentration (figure 6.8) à la longueur d'onde de 517nm.

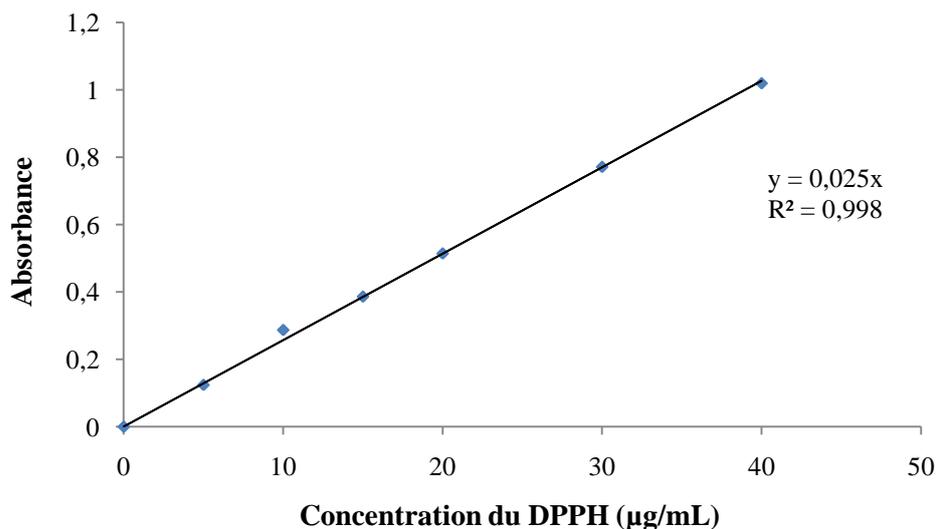


Figure 6.8: Courbe d'étalonnage du DPPH.

Par ailleurs, les données expérimentales permettent de calculer le rapport massique R_m , correspondant à différentes concentrations de l'échantillon et de la masse de DPPH.

La détermination expérimentale de la CE_{50} se fait en traçant le $DPPH_{rés} (\%)$ en fonction des différents rapports R_m . En posant $DPPH_{rés} (\%) = 50\%$, nous pouvons lire la CE_{50} .

➤ Détermination de l'indice d'efficacité anti-radicalaire

L'indice de l'efficacité anti-radicalaire, IEAR, relie la concentration du DPPH, le temps $t_{CE_{50}}$ et la concentration effective CE_{50} de l'échantillon par le biais de l'expression 6.8.

$$IEAR = \frac{1}{CE_{50} * t_{CE_{50}}} \quad (6.8)$$

Avec:

CE_{50} : la concentration effective,

$t_{CE_{50}}$: le temps de la réaction entre DPPH et l'échantillon, nécessaires pour provoquer une réduction de 50% des radicaux du DPPH utilisés.

Une classification de l'intensité de l'activité antiradicalaire, sur la base de l'IEAR, a été proposée par Sanchez Moreno et al. en 1998 [223].

$IEAR < 1. 10^{-3}$, faible activité antiradicalaire,

$1.10^{-3} < IEAR < 5. 10^{-3}$, activité antiradicalaire intermédiaire,

$5. 10^{-3} < IEAR < 10. 10^{-3}$, forte activité antiradicalaire,

$IEAR > 10. 10^{-3}$, très forte activité antiradicalaire.

Le temps, $t_{CE_{50}}$, de la réaction entre DPPH et l'échantillon, nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE_{50} est déterminé expérimentalement et ce, en traçant la diminution du pourcentage de $DPPH_{rés}$ en fonction du temps.

Chapitre 6 : Matériels, protocoles et techniques d'analyse et d'identification

L'estimation de $t_{CE_{50}}$ permet d'introduire la classification suivante [222].

$t_{CE_{50}} < 5$ min, réaction rapide,

$t_{CE_{50}} = (5-30)$ min, réaction intermédiaire,

$t_{CE_{50}} > 30$ min, réaction lente.

CHAPITRE 7:

Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

7.1. Introduction

Un système chimique ou physique peut être considéré comme étant une relation entre des variables d'entrée et des variables de sortie. Etudier un tel système consiste à estimer l'état ou l'évolution des grandeurs de sortie en réponse à une valeur ou à une variation des grandeurs d'entrée.

Pour le mécanisme d'extraction solide-liquide, les variables d'entrée sont de deux types :

- les paramètres opératoires : Ils sont liés au procédé d'extraction comme le temps, la température, la masse de la matière végétale, la vitesse d'agitation, la nature du milieu d'extraction,
- les paramètres intrinsèques : Ils sont liés à la matière végétale. Par exemple : les parties du végétal (racine, tige, feuille, fleur, fruit), l'âge de la plante, la période de cueillette, lieu de végétation, le stockage du végétal, la granulométrie, le taux d'humidité.

Les variables de sortie sont aussi de deux natures :

- les paramètres quantitatifs, représentés par le rendement en composés recherchés,
- les paramètres qualitatifs, représentés par les propriétés physico-chimiques de l'extrait (densité, viscosité,...) et sa composition chimique.

7.2. Optimisation des paramètres technologiques par plan d'expériences

7.2.1. Paramètres opératoires à optimiser

Dans un premier temps, nous allons déterminer les meilleures conditions opératoires de température, de rapport solide/liquide et de vitesse d'agitation pour des paramètres intrinsèques que sont la partie du végétal utilisée (les feuilles broyées), le taux d'humidité (2%) et le diamètre moyen des particules (273 μm).

7.2.2. Critères d'optimisation

- maximiser la teneur en composés phénoliques et le pouvoir antiradicalaire,
- maximiser la concentration en polyphénols et l'activité antiradicalaire simultanément.

7.2.3. Détermination du domaine d'étude

Le choix du domaine d'étude s'est fait sur la base des données des travaux antérieurs consignées dans la synthèse bibliographique (chapitre 4) tout en tenant compte des contraintes liées à la nature des composés phénoliques (thermolabiles) et des contraintes expérimentales. Le tableau 7.1. donne le domaine d'étude choisi.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.1: Domaine d'étude.

Facteur (F)	F _{min}	F _{max}
T (°C)	32	52
S/L (g/L)	10	50
ω (tr/min)	100	300

7.2.4. Etude préliminaire

a. Choix du solvant d'extraction

a.1. Etude expérimentale

Une étude préliminaire relative à l'extraction des polyphénols des feuilles d'inule visqueuse a été réalisée dans un soxhlet sous les conditions opératoires suivantes: H = 15%, S/L = 20 g/L et t = 8 h et ce, en utilisant des solvants de polarités différentes. Les résultats de cette étude sont mentionnés dans le tableau 7.2.

Tableau 7.2: Quantité de polyphénols totaux et activité antiradicalaire représentée par IC₅₀ des extraits d'inule visqueuse.

Solvant d'extraction	Constante diélectrique (25°C)	Moment dipolaire	Extrait récupéré	
			Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	IC ₅₀ (µg/ mL)
Eau	78,5	1,85	167,00 ± 1,29	5,43 ± 0,45
Méthanol	32,6	1,71	106,34 ± 1,49	5,33 ± 0,58
Ethanol	24,5	1,74	70,79 ± 1,20	17,67 ± 2,08
Acétate d'Ethyle	6,0	1,78	64,32 ± 1,28	22,00 ± 2,00
Acétone	20,7	2,88	51,25 ± 0,71	30,00 ± 5,00
Hexane	1,9	0,00	17,03 ± 0,43	790,00 ± 10,00

Les résultats mentionnés dans le tableau 7.2. révèlent une influence significative du pouvoir d'extraction du solvant sur le rendement en polyphénols totaux ainsi que sur le pouvoir antiradicalaire. Cette différence est due à la polarité des molécules donc à leur extractibilité par les divers solvants. La même observation a été enregistrée pour l'activité antiradicalaire. L'Acétate d'Ethyle, avec une polarité inférieure à celle de l'Acétone, a donné un rendement meilleur avec une activité antiradicalaire plus importante. Ceci pourrait être du à la nature des composés chimiques présents dans la matière végétale et aux éventuelles interactions soluté-solvant.

Les solvants utilisés peuvent être classés selon un pouvoir extractant décroissant comme suit :

Eau > Méthanol > Ethanol > Acétate d'Ethyle > Acétone > Hexane.

Les tests de récupération des huiles essentielles d'inule visqueuse par le biais des trois méthodes que sont la distillation à la vapeur, l'hydrodistillation et l'hydrodiffusion dans les

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

conditions opératoires suivantes ($H = 21\%$, $m = 20$ g, débit = 12 mL/min et $t = 5$ h) ont également montré que les huiles essentielles, même si leurs rendements en composés phénoliques sont faibles, présentaient une activité antiradicalaire très précieuse. Les hydrolats obtenus à partir de ces trois procédés révèlent la richesse en composés phénoliques avec une activité antiradicalaire importante. Les résultats obtenus sont mis en évidence par le tableau 7.3.

Tableau 7.3: Teneur totale en polyphénols et activité antiradicalaire représentée par IC_{50} des hydrolats d'inule visqueuse.

Hydrolat	Polyphénols totaux (mg EAG/ gMS)	IC_{50} (μ g/mL)
Entrainement à la vapeur d'eau	$291,02 \pm 33,42$	$0,33 \pm 0,11$
Hydrodistillation	$388,00 \pm 40,56$	$4,50 \pm 0,50$
Hydrodiffusion	$314,71 \pm 92,29$	$0,90 \pm 0,10$

Ces résultats préliminaires mettent en évidence l'influence de la nature du procédé et du solvant utilisé sur le rendement en polyphénols ainsi sur le pouvoir antiradicalaire de l'extrait récupéré. **Dans tous les cas, l'utilisation de l'eau donne les meilleurs résultats en termes de rendement en polyphénols et de pouvoir antiradicalaire.**

a.2. Chimie verte et classification des solvants

Dans l'annexe n° III, nous avons recensé les différents solvants utilisés dans l'extraction des polyphénols issus des publications de la dernière décennie et nous les avons classés selon les trois méthodes d'évaluation de la chimie verte (EHS, ACV et Traffic light de Pfrizer) [226 - 235]. Cette classification montre que les alcools simples (Méthanol, Ethanol) sont écologiquement préférables mais les mélanges eau-alcool (Méthanol-Eau ou Ethanol-Eau) sont, sur le plan de la sauvegarde de l'environnement, meilleurs en comparaison avec les alcools purs. Le solvant *Eau* se trouve en haut de l'échelle de la classification EHS. De plus, il améliore les propriétés EHS des mélanges où il rentre en composition. Il est classé comme un solvant préférable d'après Traffic light de Pfizer.

L'eau est le meilleur choix en tant que solvant, d'un point de vue environnemental.

a.3. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau dans le domaine d'étude

Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau dans le domaine d'étude ($T : 32-52^{\circ}C$ et $P : 1$ atm) sont données dans le tableau 7.4.

Tableau 7.4: Caractéristiques physico-chimiques de l'eau dans le domaine d'étude choisi.

Masse volumique (kg/ m ³)	Chaleur spécifique (kcal/kg .K)	Viscosité dynamique (kg/m.s)	Électro-négativité (Pauling)	Energie de liaison (KJ/mole)	Tension superficielle (N/m)	Constante diélectrique (ε)	Moment dipolaire (μ (D))
996,59-985,16	0,996-0,999	0,000852-0,000496	3,5	29	0,072-0,066	87	1,85

Les caractéristiques physico-chimiques de l'eau permet de la considérer comme un très bon solvant d'extraction. L'eau possède une viscosité faible, une masse volumique et une tension superficielle relativement élevées mais qui diminuent considérablement avec l'augmentation de la température. L'eau possède pour autant un moment dipolaire élevé et une constante diélectrique importante donc un fort pouvoir ionisant et un pouvoir dissociant intéressant respectivement. L'eau est un solvant protique, polaire avec une gêne stérique très faible. Néanmoins, la solvation des molécules est spécifique. L'effet du solvant varie donc selon les molécules concernées. Or, les caractéristiques des polyphénols telles que la polarisabilité et les liaisons hydrogène en particulier rendent l'eau excellent solvant pour l'extraction des composés phénoliques.

a.4. Contraintes liées au choix de l'eau comme solvant d'extraction et solutions proposées

La méthode d'évaluation de l'impact du cycle de vie (ACV) définit la demande d'énergie cumulative (DEC) qui prend en compte l'énergie de production et de recyclage du solvant tout en long de son cycle de vie. Plus la demande énergétique cumulative est élevée, moins le solvant est vert [227]. Sachant qu'avec une température d'ébullition de 100°C, l'énergie de récupération de l'eau est élevée, ce qui fait augmenter un peu la DEC.

Néanmoins, certaines méthodes comme la distillation sous vide fait diminuer cette énergie cumulative en diminuant la température de distillation, de même une valorisation des eaux résiduelles d'extraction, dans une nouvelle extraction, semble être une solution à la fois économique et écologique à ce problème.

Dans ce qui suit et dans un souci de développement durable, l'eau sera choisie comme solvant d'extraction : un solvant vert sans danger, peu coûteux et accessible.

b. Détermination du temps d'extraction

Dans une première phase, nous avons procédé à l'établissement de la cinétique d'extraction des polyphénols totaux sous les conditions opératoires suivantes (tableau 7.5). Les résultats obtenus sont schématisés par les courbes de la figure 7.1.

Tableau 7.5: Cinétique d'extraction des polyphénols totaux.

Temps d'extraction (min)	0-360
Température d'extraction (°C)	32-42-52
Rapport solide- liquide (S/L)(g/L)	10
Vitesse d'agitation (tr/min)	200

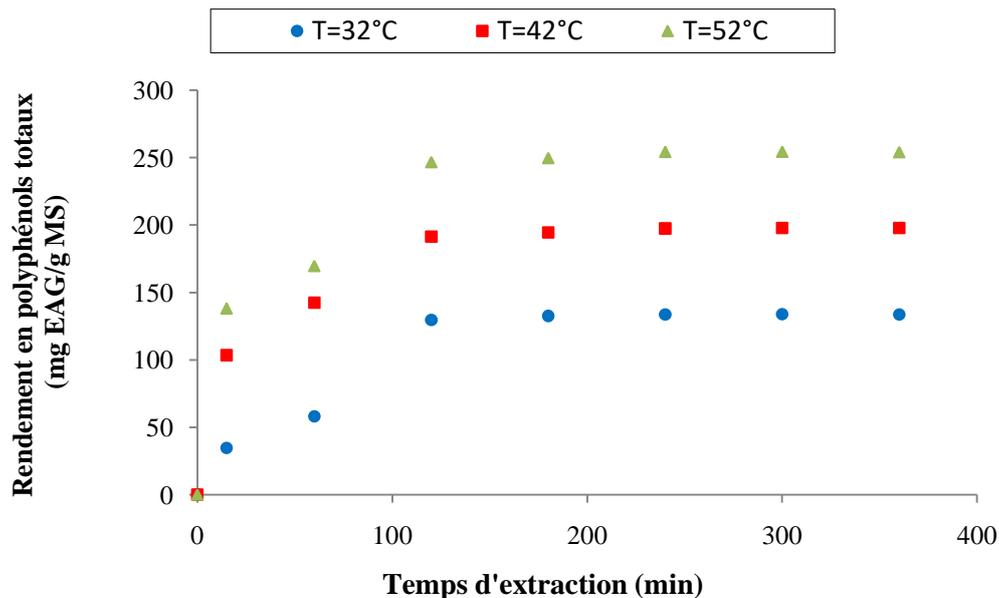


Figure 7.1: Cinétique d'extraction des polyphénols d'inule visqueuse.

Notons que les conditions utilisées dans chaque expérience appartiennent au domaine d'étude (tableau 7.1). Pour les trois expériences réalisées, le rendement d'extraction commence à se stabiliser à partir de $t=120$ min. Une faible évolution de celui-ci est enregistrée dans l'intervalle (120-360 min) où nous récupérons environ 3% en composés. Ainsi, pour le reste des expériences, nous travaillerons avec un temps d'équilibre de 120 minutes.

7.2.5. Optimisation par plan factoriel complet

a. Choix du modèle mathématique

Nous proposons d'étudier l'influence de trois facteurs (la température (T)-le rapport solide/liquide (S/L) et la vitesse d'agitation (ω)) sur les deux critères d'optimisation définis précédemment (Section 7.2.2). Chaque facteur prend deux niveaux (max et min), d'où un plan factoriel complet 2^3 .

- nombre d'expériences du plan factoriel : $n_f = 2^3 = 8$ expériences
- nombre des expériences répétitives au centre du domaine d'étude : $n_0 = 2$
- nombre total d'expériences = $n_f + n_0 = 10$ expériences.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

L'équation du modèle peut s'écrire sous la forme de l'équation (7.1).

$$y = a_0 + a_1 x_1 + a_2 x_2 + a_3 x_3 + a_{12} x_1 x_2 + a_{13} x_1 x_3 + a_{23} x_2 x_3 + a_{123} x_1 x_2 x_3 \quad (7.1)$$

Avec « a_i » les coefficients du modèle.

Pour l'élaboration du modèle mathématique, nous avons déterminé le rendement d'extraction au temps d'équilibre. La matrice de calcul est mise en relief dans le tableau 7.6 selon l'ordre aléatoire donné par le logiciel statgraphics 17.1.02 (version d'essai).

Tableau 7.6: Résultats de l'extraction des polyphénols pour le modèle de premier ordre.

	Variables réelles			Variables réduites			Rendement en polyphénols totaux (mg EAG/g MS) à t=120min
	T(°C)	S/L(g/L)	ω (tr/min)	X ₁	X ₂	X ₃	
Plan factoriel 2³	52	50	300	+1	+1	+1	118,0
	32	50	300	-1	+1	+1	113,5
	52	10	300	+1	-1	+1	245,4
	32	10	300	-1	-1	+1	131,5
	52	50	100	+1	+1	-1	114,8
	32	50	100	-1	+1	-1	105,7
	52	10	100	+1	-1	-1	244,1
	32	10	100	-1	-1	-1	128,3
Répétition au centre	42	30	200	0	0	0	124,6
	42	30	200	0	0	0	125,4

b. Ajustement du modèle de premier ordre proposé.

b.1. Calcul des coefficients du modèle (logiciel Statgraphics 17 .1.02)

Les coefficients du modèle du premier ordre sont déterminés par le logiciel Statgraphics 17.1.02 en utilisant la relation (7.2). Les résultats sont mentionnés dans le tableau 7.7.

$$a_i = \frac{1}{n} * \sum_{j=1}^n x_i * y_j \quad \text{et} \quad a_0 = \frac{1}{n} * \sum_{j=1}^n y_j \quad (7.2)$$

Tableau 7.7: Coefficients du modèle de premier ordre pour la détermination de la teneur en polyphénols.

Coefficient	Constante (a ₀)	a ₁	a ₂	a ₃	a ₁₂	a ₁₃	a ₂₃	a ₁₂₃
Estimation	150,1	30.41	-37,16	0,19	-27,01	-0,81	-0,81	-0,33

b.2. Test de Fisher

- Calcul de la variance résiduelle

La variance résiduelle est calculée par la relation (7.3)

$$\delta_{\text{res}}^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y}_i)^2 / V_{\text{res}} \quad (7.3)$$

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Avec :

\hat{y}_i : la valeur donnée par le modèle,

y_i : la valeur expérimentale,

V_{res} : le degré de liberté, $V_{res}=n-k$: n étant le nombre total d'essais et k, le nombre de coefficients du modèle.

- Calcul de la variance relative

La variance relative est calculée par la relation (7.4)

$$\delta^2 y = \sum_{i=1}^m (y_j - \bar{y})^2 / V_y \quad (7.4)$$

Avec :

m : le nombre d'essais répétitifs,

\bar{y} : la moyenne des essais répétitifs,

y_j : les résultats des essais répétitifs.

V_y : étant égal à m-1.

La validité du modèle est vérifiée par le test de Fisher qui permet d'apprécier l'écart entre δ^2_{res} et $\delta^2 y$. Le test consiste à comparer la valeur du rapport $F = \delta^2_{res} / \delta^2 y$ calculée à la valeur tabulée $F_\alpha (V_{res}-V_y)$ (Table de Fisher) qui correspond à un seuil de confiance de 5%.

Le modèle n'est valable que si la condition $F < F_\alpha$ est vérifiée

Deux cas peuvent se présenter :

- condition vérifiée, le modèle du premier ordre peut représenter les résultats expérimentaux,
- condition non vérifiée, le modèle de second ordre est utilisé et un plan de surface de réponse est appliqué.

c. Résultats de statistiques pour le modèle de premier ordre (plan complet 2^3)

Les valeurs des coefficients sont à l'état codé. Sur la base du rendement expérimental en polyphénols au point central (0, 0, 0) (125,0 mg EAG/g MS en moyenne (tableau 7.6)), de la constante du modèle (150,1 mg EAG/g MS (Tableau 7.7), de la valeur du rapport $F = \delta^2_{res} / \delta^2 y$ (1978) et de la valeur de l'expression $F_\alpha (V_{res}-V_y)$ (161,45), nous pouvons dire que le modèle du premier ordre choisi est inadéquat et représente mal les données expérimentales.

Par conséquent, il faut poursuivre l'étude par un plan de surface de réponse. Nous choisissons ainsi un plan composite.

7.2.6. Application de la méthode des surfaces de réponse

Un plan composite est constitué de trois parties [236] :

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

1. un plan factoriel dont les facteurs prennent deux niveaux,
2. au moins un point expérimental situé au centre du domaine d'étude,
3. des points axiaux (points en étoile notés α). Ces points expérimentaux sont situés sur les axes de chacun des facteurs. Les distances des points en étoile dépendent du critère d'optimalité choisi.

a. Choix des points en étoile (α)

Il est conditionné par l'expérience (faisabilité) et par le critère d'optimalité (on choisit en général l'isovariance par rotation ou le presque orthogonalité) [237].

a.1. Contraintes expérimentales

Le tableau 7.8 donne les limites de variation des paramètres expérimentaux.

Tableau 7.8: Limites de variation des paramètres opératoires.

Paramètre opératoire	Contrainte expérimentale	Cause
Température (°C)	<60	Composés phénoliques thermiquement instables [179, 204]
Rapport S/L (g/ L')	< 75	Masse trop importante pour des rapports solide / liquide élevés
Vitesse d'agitation (tr/min)	60 < ω < 400	Exigence de fabrication de l'agitateur IKA RW 28 Basic (plage de vitesse I pour fréquence de 50 Hz). Utilisation de tige à ancre, recommandée pour des vitesses faibles.

L'extraction par l'eau des polyphénols de l'inule visqueuse a été réalisée en mode batch dans un réacteur de 2L muni d'un agitateur à hélice (Model RW 28 Basic, IKA), ayant deux plages de vitesse. Nous choisissons la plage de vitesse I pour les solvants à viscosité faible à moyenne (eau). Pour une fréquence de 50 Hz, la plage de vitesse varie de 60 à 400 tr/min.

a.2. Critère d'optimalité

Le critère de presque orthogonalité a été choisi par nos soins. L'orthogonalité est obtenue si la matrice $X_t X$ est diagonale (X_t étant la matrice transposée de X et X , la matrice du modèle).

Soit n , le nombre total des essais, il est égal à n_f (plan factoriel) + n_α (points en *) + n_0 (points au centre). Pour déterminer la position des points axiaux, il a fallu calculer la valeur de α qui est donné par la formule (7.5).

$$\alpha = \sqrt[4]{\frac{n_f * (\sqrt{n} - \sqrt{n_f})^2}{4}} \quad (7.5)$$

Pour un plan factoriel 2^3 : $n_f = 2^3 = 8$ et $n_\alpha = 2 * 3 = 6$ ($\pm\alpha$ pour chaque facteur).

Le tableau 7.9 donne les valeurs de α selon celles de n_0 [237].

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.9: Valeurs de α pour différentes valeurs de n_0

n_0	1	2	3	4
α	1,215	1,287	1,353	1,414

Pour notre cas , on prend $n_0 = 4$ et donc $\alpha = 1,414$.

Le plan composite choisi est alors représenté par la figure 7.2.

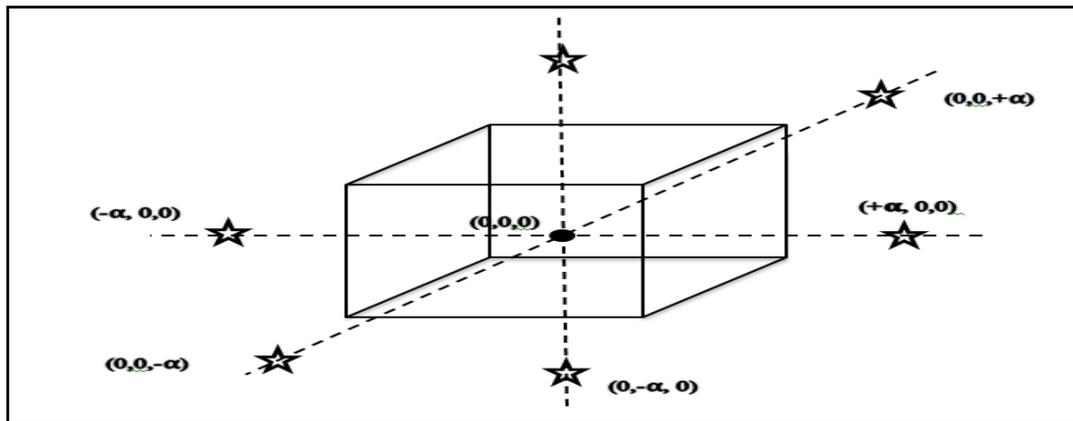


Figure 7.2 : Représentation du plan composite en trois dimensions.

Le domaine de variation des facteurs est ramené à l'intervalle $[-\alpha, +\alpha]$. Les cinq niveaux de chaque paramètre sont respectivement calculés par les relations du tableau 7.10 [237].

Tableau 7.10: Calcul des valeurs réelles et réduites.

Niveaux (valeurs réduites)	Valeurs réelles
$-\alpha$	Min
-1	$(\text{Min} + \text{Max})/2 - (1/\alpha) \cdot [\text{Max} - (\text{Min} + \text{Max})/2]$
0	$(\text{Min} + \text{Max})/2$
+1	$(\text{Min} + \text{Max})/2 + (1/\alpha) \cdot [\text{Max} - (\text{Min} + \text{Max})/2]$
$+\alpha$	Max

b. Conception de surface de réponse

Le tableau 7.11 , ci-dessous, donne les valeurs des réponses pour l'extraction aqueuse des composés phénoliques d'inules visqueuse.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.11: Conception de surface de réponse et valeurs de réponse correspondantes pour l'extraction aqueuse.

Valeurs réelles et codées			PT (mg EAG/ g MS)		FLA (mg EQ/ g MS)		AN (mg EM/gMS)		I (%)	
X ₁ (°C(-))	X ₂ (g/L (-))	X ₃ (tr/mn (-))	Juillet	Décembre	Juillet	Décembre	Juillet	Décembre	Juillet	Décembre
32(-1)	10(-1)	300(+1)	132	135	7,02	5,35	0,76	0,71	75	73
32(-1)	10(-1)	100(-1)	128	129	8,29	6,62	0,67	0,66	75	73
42(0)	58(+1,414)	341,4(0)	105	97	7,32	5,65	0,12	0,10	75	74
52(+1)	10(-1)	100(-1)	244	194	17,4 9	15,8 2	0,46	0,44	81	79
42(0)	30(0)	341,4 (+1,414)	134	108	8,04	6,37	0,27	0,25	81	79
42(0)	30(0)	58,6(-1,414)	113	102	6,36	4,69	0,21	0,19	78	76
27,86(-1,414)	30(0)	200(0)	97	80	5,64	3,97	0,13	0,11	71	71
42(0)	2(-1,414)	200(0)	284	246	18,9 2	17,2 5	0,71	0,67	82	81
32(-1)	50(+1)	300(+1)	114	94	5,17	4,84	0,15	0,14	73	72
56,14(+1,414)	30(0)	200(0)	129	120	8,85	7,18	0,11	0,09	81	80
52(+1)	10(-1)	300(+1)	245	195	15,3 2	13,6 5	0,57	0,54	82	81
52(+1)	50(+1)	100(-1)	115	90	5,60	5,27	0,13	0,11	76	74
52(+1)	50(+1)	300(+1)	118	100	6,62	6,29	0,18	0,16	76	74
32(-1)	50(+1)	100(-1)	106	92	5,45	5,22	0,14	0,12	73	72
42(0)	30(0)	200(0)	125	108	5,54	5,12	0,29	0,27	80	80
42(0)	30(0)	200(0)	125	107	5,72	5,05	0,27	0,26	80	80
42(0)	30(0)	200(0)	125	108	5,64	5,13	0,28	0,26	81	80
42(0)	30(0)	200(0)	126	108	5,54	5,08	0,30	0,27	80	80

c. Création et analyses des plans composites par le logiciel Statgraphics 17.1.02

Dans cette partie, nous avons étudié l'influence des conditions opératoires (T, S/L et ω) sur les rendements des composés phénoliques ainsi sur le pouvoir antiradicalaire des deux périodes d'extraction (Juillet et Décembre). Les résultats sont schématisés par la figure 7.3.

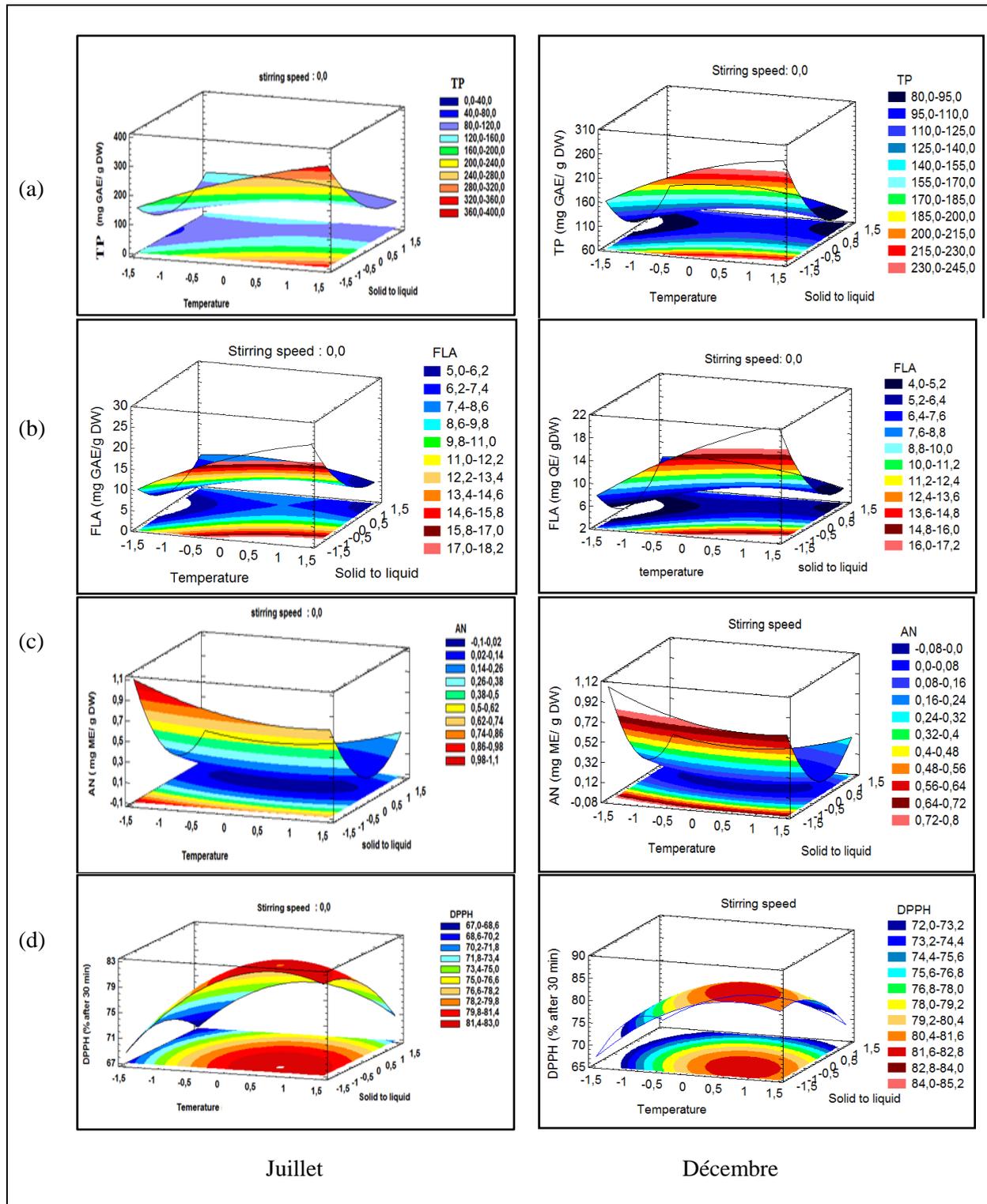


Figure 7.3. Graphique de surfaces de réponse montrant l'effet de l'interaction de la température et du rapport solide-liquide sur les polyphénols totaux (a), sur la teneur en flavonoïdes (b), sur le rendement des anthocyanes (c) et sur l'activité antiradicalaire mesurée par DPPH (d) sur les extraits aqueux d' inule visqueuse. Les variables sont présentées dans leurs niveaux codés et la vitesse d'agitation est maintenue à sa valeur centrale.

c. 1. Analyse de la variance (test ANOVA)

La procédure d'analyse de variance à plusieurs facteurs est conçue pour construire un modèle statistique décrivant l'impact de deux facteurs qualitatifs X_j ou plus sur une variable à expliquer Y . Cette analyse permet de tester la pertinence des variables impliquées dans le modèle étudié et de représenter graphiquement l'importance de chaque facteur sur la réponse étudiée. Pour cela, nous définissons l'hypothèse nulle notée H_0 qui est l'égalité des moyennes des populations dont sont extraits les échantillons : $m_1=m_2=m_3=...=m_k= m$ et qui suppose que l'effet du paramètre est nul. La probabilité d'accepter cette hypothèse est notée Val-p (proba). Pour un niveau de signification de 5% : Si Val-p < 5%, H_0 est rejetée, le paramètre sera significatif (s). Si Val-p > 5%, H_0 est retenue, le paramètre sera non significatif (ns)[238].

Pour déterminer si les facteurs ont ou n'ont pas d'effets significatifs sur le rendement d'extraction des polyphénols, des flavonoïdes, des anthocyanes et sur l'activité antiradicalaire, une analyse de variance est mise en œuvre. Les résultats donnés par le logiciel statgraphics 17.1.02. sont représentés dans le tableau 7.12 (ci-dessous).

Notons que dans le tableau 7.12, le rapport F (test de Fisher) est calculé par la formule donnée dans la section 7.2.5. L'écart type résiduel (δ_{res}) est défini par la racine de la variance résiduelle, qui est le rapport entre l'erreur quadratique totale (SSE) et le degré de liberté (d_f) défini par $(n-k)$ tel que n est le nombre de tests et k , le nombre de coefficients du modèle. Il est exprimé par la relation (7.6) :

$$\delta_{res} = \sqrt{\frac{(y_{cal} - y_{exp})^2}{n-k}} \quad (7.6)$$

c.2. Détermination des modèles mathématiques

Le modèle de second ordre est donné par l'équation générale (7.7) [236].

$$Y = a_0 + \sum_{i=1}^3 a_i * x_i + \sum_{i=1}^3 a_{ii} * x_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 a_{ij} * x_i * x_j \quad (7.7)$$

Avec :

a_i : les coefficients du modèle,

x_i et x_j : les facteurs du plan de second ordre.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.12: Coefficients de régression des facteurs codés, coefficient de détermination (R^2), écarts-types et non-ajustement des modèles polynomiaux de second ordre représentant la teneur en polyphénols totaux, le taux de flavonoïdes, la quantité d'anthocyanes et l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse pour le mois de Juillet (a) et le mois de Décembre (b).

Coefficient	Valeur prédite PT Juillet			Valeur prédite PT Décembre		
	Coefficient	Valeur P	Valeur F	Coefficient	Valeur P	Valeur F
Moyenne a_0	125,8			119,25		
Linéaire						
Température a_1	24,1	0,0023 s	19,30	30,93	0,0234s	12,74
Rapport Solide/ liquide a_2	-45,9	0,0000 s	70,04	-81,28	0,0007s	88,00
Vitesse d'agitation a_3	3,8	0,5092 ns	0,48	4,58	0,6250ns	0,28
Quadratique						
Température x Température a_{11}	-6,8	0,3370 ns	1,04	-19,25	0,3541ns	1,10
Rapport solide / liquide x Rapport solide / liquide a_{22}	33,6	0,0010 s	25,10	52,25	0,0467s	8,08
Vitesse d'agitation x Vitesse d'agitation a_{33}	-1,8	0,7914 ns	0,07	-14,25	0,4815 ns	0,61
Intéraction						
Température x Rapport solide / liquide a_{12}	-27	0,0038 s	16,16	-30,25	0,0464s	8,12
Température x Vitesse d'agitation a_{13}	0,25	0,9067 ns	0,01	0,75	0,9471 ns	0,0
Rapport solide / liquide x vitesse d'agitation a_{23}	1,20	0,9067 ns	0,01	1,25	0,9119 ns	0,01
Coefficient de détermination R^2	0,94			0,97		
Ecart type % moyen	1,90			6,17		
Non ajustement du modèle	0,018			0,086		

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.12 (Suite): Coefficients de régression des facteurs codés, coefficient de détermination (R^2), écarts-types et non-ajustement des modèles polynomiaux de second ordre représentant la teneur en polyphénols totaux, le taux de flavonoïdes, la quantité d'anthocyanes et l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse pour le mois de Juillet (a) et le mois de Décembre (b).

Coefficient	Valeur prédite FLA Juillet			Valeur prédite FLA Décembre		
	Coefficient	Valeur P	Valeur F	Coefficient	Valeur P	Valeur F
Moyenne a_0	8,83			6,79		
Linéaire						
Température a_1	3,83	0,0206 s	13,79	1,96	0,0225s	14,78
Rapport Solide/ liquide a_2	-7,05	0,0024 s	46,63	-3,02	0,0051s	53,56
Vitesse d'agitation a_3	0,23	0,8314 ns	0,005	-0,035	0,9513 ns	0,080
Quadratique						
Température x Température a_{11}	-1,58	0,5088 ns	0,53	-0,607	0,6260 ns	0,76
Rapport solide / liquide x Rapport solide / liquide a_{22}	4,28	0,1220 ns	3,83	2,33	0,1133 ns	5,46
Vitesse d'agitation x Vitesse d'agitation a_{33}	-2,46	0,3230 ns	1,27	-0,63	0,6137 ns	2,67
Intéraction						
Température x Rapport solide / liquide a_{12}	-3,82	0,0392 s	9,11	-2,0	0,0397s	12,34
Température x Vitesse d'agitation a_{13}	0,05	0,8486 ns	0,04	0,0625	0,9297 ns	0,09
Rapport solide / liquide x vitesse d'agitation a_{23}	0,52	0,3956 ns	0,90	0,51	0,4861 ns	1,78
Coefficient de détermination R^2	0,96			0,94		
Ecart type % moyen	0,89			0,96		
Non ajustement du modèle	0,64			0,33		

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.12 (Suite): Coefficients de régression des facteurs codés, coefficient de détermination (R^2), écarts-types et non-ajustement des modèles polynomiaux de second ordre représentant la teneur en polyphénols totaux, le taux de flavonoïdes, la quantité d'anthocyanes et l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse pour le mois de Juillet (a) et le mois de Décembre (b).

Coefficient	Valeur prédite AN Juillet			Valeur prédite AN Décembre		
	Coefficient	Valeur P	Valeur F	Coefficient	Valeur P	Valeur F
Moyenne a_0	0,01		0,01			
Linéaire						
Température a_1	-0,03	0,0409 s	-0,03	-0,07	0,0413s	8,80
Rapport Solide / liquide a_2	-0,22	0,0000 s	-0,22	-0,44	0,000s	364,13
Vitesse d'agitation a_3	0,03	0,0658 ns	0,03	0,05	0,0911 ns	4,91
Quadratique						
Température x Température a_{11}	0,05	0,0859 ns	0,05	0,11	0,0774 ns	5,59
Rapport solide/ liquide x Rapport solide/ liquide a_{22}	0,20	0,0011 s	0,20	0,39	0,0012s	67,58
Vitesse d'agitation x Vitesse d'agitation a_{33}	0,11	0,0090 s	0,11	0,23	0,0085s	23,33
Intéraction						
Température x Rapport solide / liquide a_{12}	0,05	0,0199 s	0,05	0,10	0,0236s	12,67
Température x Vitesse d'agitation a_{13}	0,01	0,6206 ns	0,01	0,02	0,5158 ns	0,51
Rapport solide / liquide x vitesse d'agitation a_{23}	-0,02	0,2794 ns	-0,02	-0,02	0,5158 ns	0,51
Coefficient de détermination R^2	0,99			0,99		
Ecart type % moyen	0,039			0,017		
Non ajustement du modèle	0,677			0,543		

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.12 (Suite): Coefficients de régression des facteurs codés, coefficient de détermination (R^2), écarts-types et non-ajustement des modèles polynomiaux de second ordre représentant la teneur en polyphénols totaux, le taux de flavonoïdes, la quantité d'anthocyanes et l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse pour le mois de Juillet (a) et le mois de Décembre (b).

Coefficient	Valeur prédite I(%) Juillet			Valeur prédite I(%) Décembre		
	Coefficient	Valeur P	Valeur F	Coefficient	Valeur P	Valeur F
Moyenne a_0	81			80,99		
Linéaire						
Température a_1	2,72	0,0003 s	133,72	5,12	0,0019s	52,72
Rapport Solide / liquide a_2	-1,99	0,0011 s	71,31	-3,98	0,0048s	31,89
Vitesse d'agitation a_3	0,28	0,2942 ns	1,46	1,04	0,2142 ns	2,18
Quadratique						
Température x Température a_{11}	-2,75	0,0053 s	30,21	-5,49	0,0213s	13,51
Rapport solide/ liquide x Rapport solide/ liquide a_{22}	-1,25	0,0669 ns	6,24	-3,49	0,0794 ns	8,16
Vitesse d'agitation x Vitesse d'agitation a_{33}	-0,75	0,2082 ns	2,25	-3,49	0,0794 ns	8,16
Intéraction						
Température x Rapport solide / liquide a_{12}	-1,00	0,0258 s	11,98	-2,5	0,0444s	8,38
Température x Vitesse d'agitation a_{13}	0,00	1,0000 ns	0,00	0,5	0,5938 ns	0,34
Rapport solide / liquide x vitesse d'agitation a_{23}	-0,25	0,4356 ns	0,75	-0,5	0,5938 ns	0,34
Coefficient de détermination R^2	0,98			0,96		
Ecart type % moyen	0,817			0,638		
Non ajustement du modèle	0,059			0,483		

Le tableau 7.13, met en relief les équations mathématiques modélisant les paramètres expérimentaux et leurs influences mutuelles.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.13: Equations polynomiales décrivant les données expérimentales de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antiradicalaire des extraits aqueux d'inule visqueuse et leurs coefficients de régression respectifs R² (Les paramètres non significatifs sont éliminés).

Réponse	Equation du modèle (en valeurs codées)	R ²
Polyphénols totaux (TP) (mg EAG/ g MS) Juillet	$TP = 125,8 + 24,1X_1 - 45,9 X_2 + 33,6 *X_2^2 - 1,8 X_3^2 - 27 X_1X_2$	0,94
Polyphénols totaux (TP) (mg EAG/g MS) Décembre	$TP = 119,5 + 30,9X_1 - 81,3 X_2 + 52,3 *X_2^2 - 30,3 X_1X_2$	0,97
Flavonoïdes (FLA) (mg EQ/g MS) Juillet	$FLA = 8,83 + 38,3 X_1 - 7,1X_2 - 3,8 X_1X_2$	0,96
Flavonoïdes (FLA) (mg EQ/g MS) Décembre	$FLA = 6,79 + 1,96 X_1 - 3,0 X_2 - 2 X_1X_2$	0,94
Anthocyanes (AN) (mg EM/g MS) Juillet	$AN = 0,01 - 0,03 X_1 - 0,22 X_2 + 0,2 X_2^2 + 0,11 X_3^2 + 0,05 X_1X_2$	0,99
Anthocyanes (AN) (mg EM/ g MS) Décembre	$AN = -0,014 - 0,068 X_1 - 0,43 X_2 + 0,39 X_2^2 + 0,23X_3^2 + 0,11 X_1X_2$	0,99
Activité antiradicalaire I (%) Juillet	$I(\%) = 81 + 2,72X_1 - 1,99X_2 - 2,75X_1^2 - X_1X_2$	0,98
Activité antiradicalaire I (%) Décembre	$I(\%) = 81 + 5,12X_1 - 3,98X_2 - 5,49X_1^2 - 2,5X_1X_2$	0,96

c.3. Influence des conditions opératoires sur l'extraction aqueuse des polyphénols d'inule visqueuse

Le diagramme de pareto, représenté sur la figure 7.4, illustre les différents effets par ordre d'importance pour chaque variable. La barre transversale représente l'amplitude minimale à partir de laquelle les effets seront considérés comme étant statistiquement significatifs sur la réponse étudiée. Dans ce graphique, la couleur bleue représente une influence négative des paramètres tandis que la couleur grise indique une influence positive des paramètres.

- Effets simples des paramètres opératoires

L'effet simple d'un paramètre représente la variation d'un paramètre de son niveau inférieur à son niveau supérieur, lorsque les autres paramètres sont à leurs niveaux centraux. Les effets simples des trois facteurs sur les différentes réponses sont représentés sur la figure 7.5. Nous pouvons remarquer que les rendements en polyphénols, la teneur en flavonoïdes ainsi que le pouvoir antiradicalaire augmentent quand la température augmente. Ils diminuent significativement avec l'augmentation du rapport S/L. Par ailleurs, nous enregistrons aussi une légère amélioration des teneurs en composés phénoliques par accroissement du rapport solide sur liquide après une certaine valeur critique. L'influence de la vitesse d'agitation sur ces trois réponses est relativement négligeable en la comparant avec les deux autres facteurs. En ce qui concerne le contenu en anthocyanes, la température a un effet négatif, de même

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

pour le rapport S/L. L'augmentation de la vitesse d'agitation fait diminuer la quantité d'anthocyanes récupérée jusqu'à une valeur critique à partir de laquelle le rendement augmente en augmentant la vitesse d'agitation.

- Interaction entre les paramètres opératoires

Le graphique des interactions (figure 7.6) affiche les moyennes des moindres carrés pour toutes les combinaisons des niveaux de deux facteurs. Si les facteurs ne sont pas en interaction, les lignes dans le graphique doivent être approximativement parallèles ce qui est le cas pour les deux interactions (rapport S/L avec vitesse d'agitation) et (température avec vitesse d'agitation). Si ce n'est pas le cas comme pour l'interaction température avec rapport S/L, alors l'effet d'un facteur dépend du niveau de l'autre. Il faut noter, dans ce graphique, que l'effet du rapport S/L est bien plus important pour les faibles températures que pour les températures élevées.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

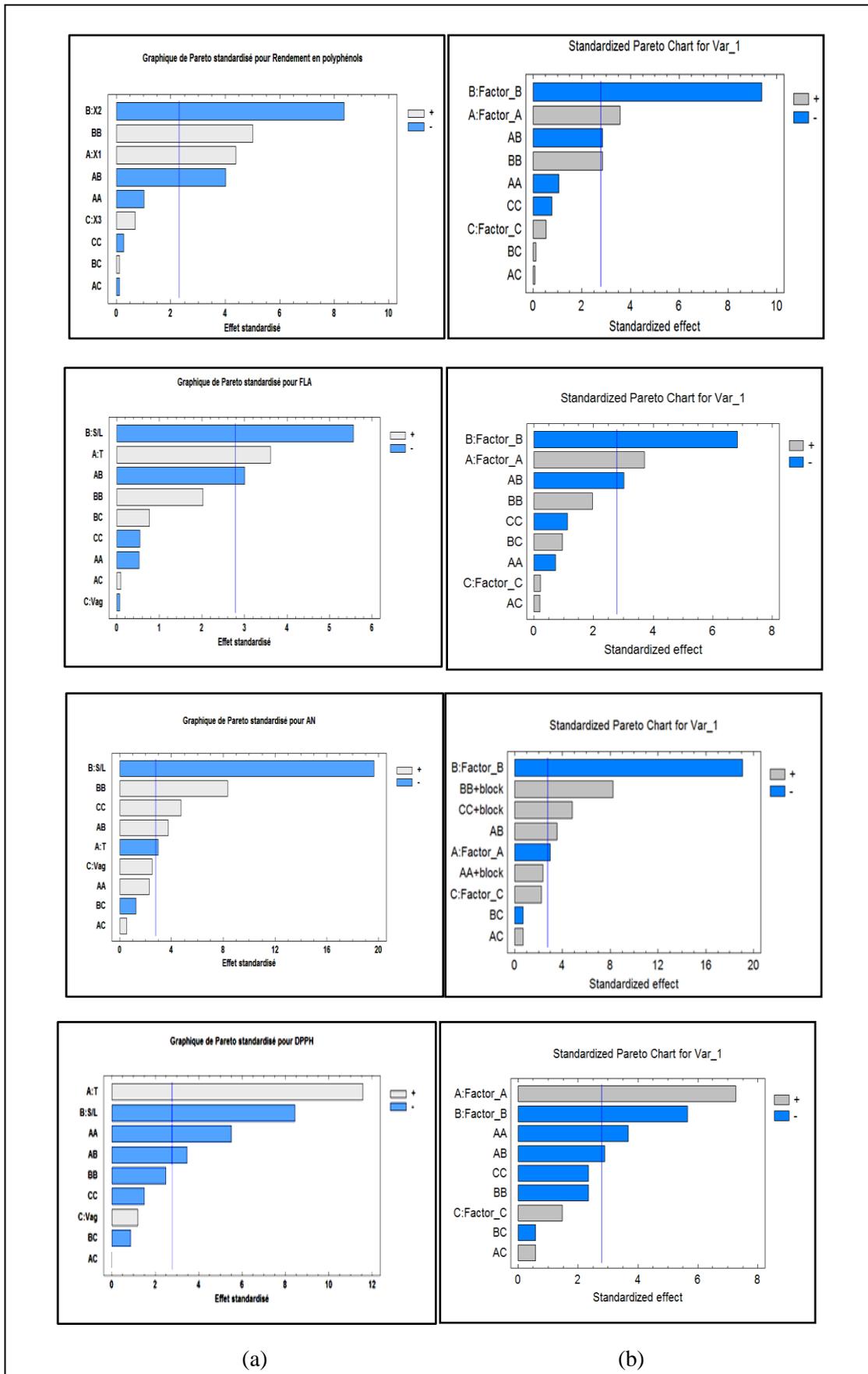


Figure 7.4: Diagramme de Pareto, mois de Juillet (a) et mois de Décembre 2014 (b).

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

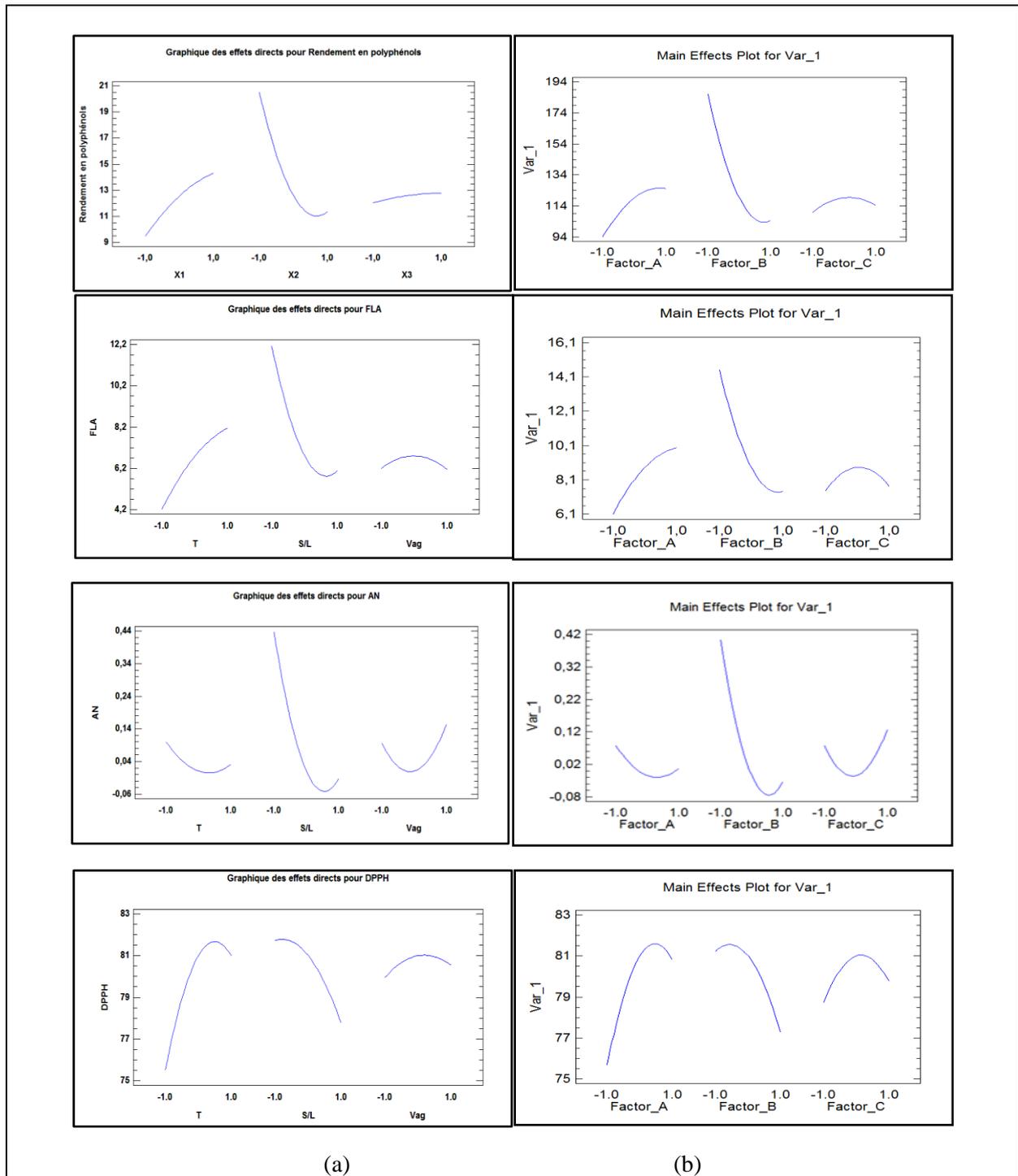


Figure 7.5: Effets simples des paramètres opératoires (mois de Juillet (a) et de Décembre(b)).

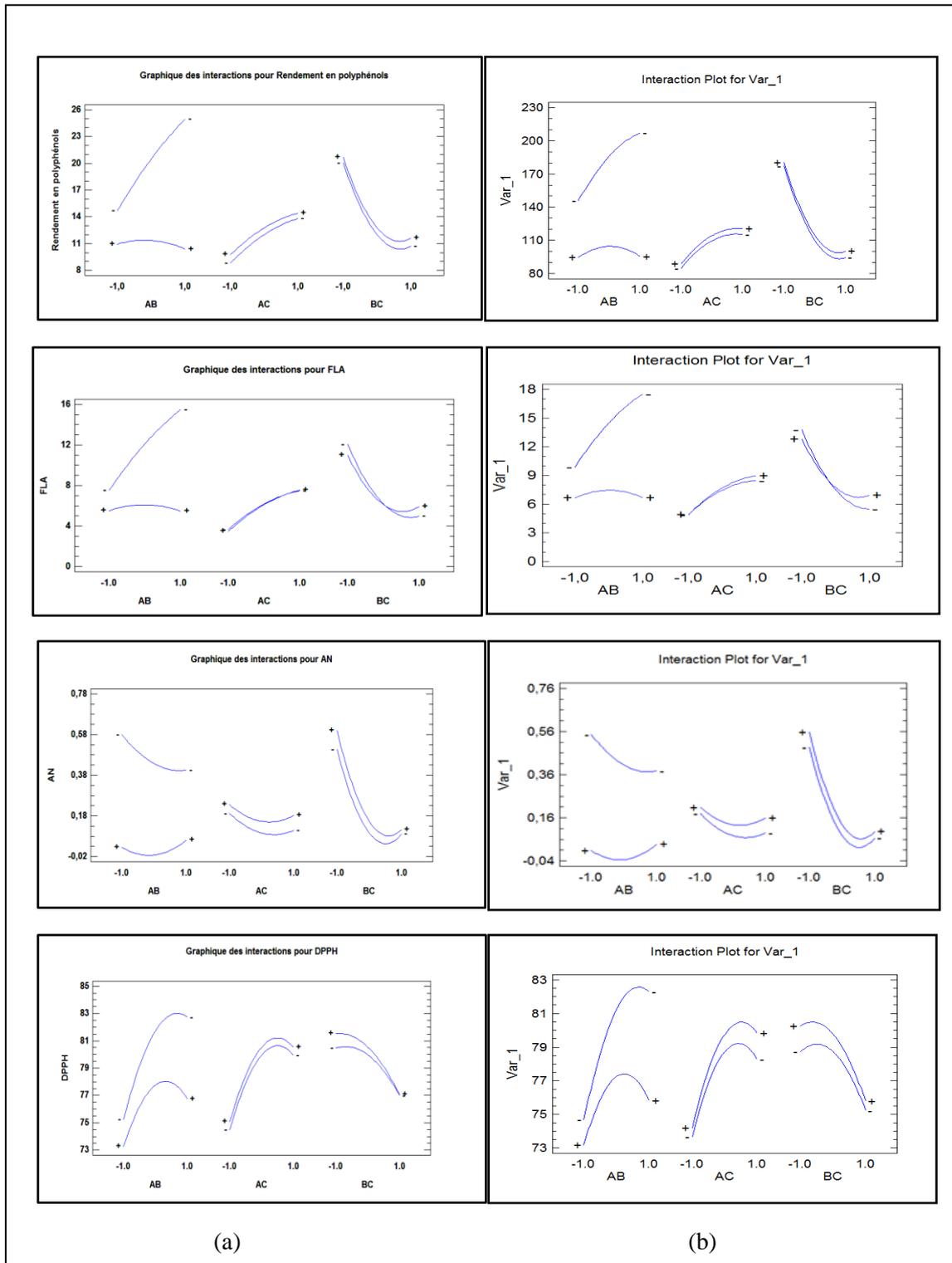


Figure 7.6: Graphique d'interaction entre les paramètres opératoires (mois de Juillet (a) et de Décembre(b)).

d. Détermination des conditions optimales d'extraction

d.1. Optimisation des différentes réponses

L'optimisation indirecte par plan d'expériences, en utilisant le logiciel Statgraphics 17.1.02, a donné les résultats mentionnés dans le tableau 7.14.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.14: Optimisation des différentes réponses par plan d'expériences.

Réponse	Conditions opératoires optimales valeur réelle (valeur codée)			Valeur optimale de la réponse
	T °C (-)	S/L g/L (-)	ω tr/ min (-)	
Polyphénols totaux, Juillet (mg EAG/ g MS)	56(1,414)	2(-1,414)	242(0,42)	332,68
Polyphénols totaux, Décembre (mg EAG/ g MS)	56(1,414)	2(-1,414)	211,4(0,114)	261,82
Flavonoïdes Juillet (mg EQ/ g MS)	56(1,414)	2(-1,414)	164,4(-0,356)	23,09
Flavonoïdes , Décembre (mg EQ/g MS)	56(1,414)	2(-1,414)	145,8(-0,542)	21,45
Anthocyanes, Juillet (mg EM/ g MS)	28(-1,414)	2,68(-1,366)	341(1,414)	1,24
Anthocyanes, Décembre (mg EM/ g MS)	28(-1,414)	2,68(-1,366)	341(1,414)	1,18
Activité antiradicalaire, Juillet I (%)	48,98(0,698)	7,74(-1,113)	237,6 (0,376)	83,11
Activité antiradicalaire , Décembre I (%)	48,66(0,66)	46,4(0,82)	226(0,26)	82,74

d.2. Optimisation multi-réponses

La figure 7.7 montre que les valeurs des facteurs donnant l'optimum des différentes réponses ne sont pas les mêmes. Toutefois, il est utile de déterminer les conditions optimales des deux fonctions, teneur en polyphénols et activité antiradicalaire. Nous procédons à une optimisation multi-réponses à l'aide du logiciel Statgraphics 17.1.02. Elle permet de déterminer le paramétrage des facteurs expérimentaux qui donne les caractéristiques désirées pour les variables de réponse de façon simultanée. De ce fait, nous faisons appel à une fonction de désirabilité, basée sur les valeurs des variables de réponse, qui est alors optimisée. Le point optimal entouré par le cercle vert dans le graphique de superposition des contours des deux réponses (figure 7.7) correspond à une température de 50°C- 51°C, un rapport S/L de 3 -2 g/L et une vitesse d'agitation de 217 tr/min- 220 tr/min pour les mois de Juillet et de Décembre respectivement. Sous ces conditions d'extraction, l'optimum prévu aura un contenu en composés phénoliques de 291 et 251mg EAG/g MS respectivement et une activité antiradicalaire de 83% (pour les deux mois) proches des valeurs moyennes trouvées par les résultats expérimentaux: 298 et 260 mg EAG/ g MS pour les mois de Juillet et de Décembre respectivement.

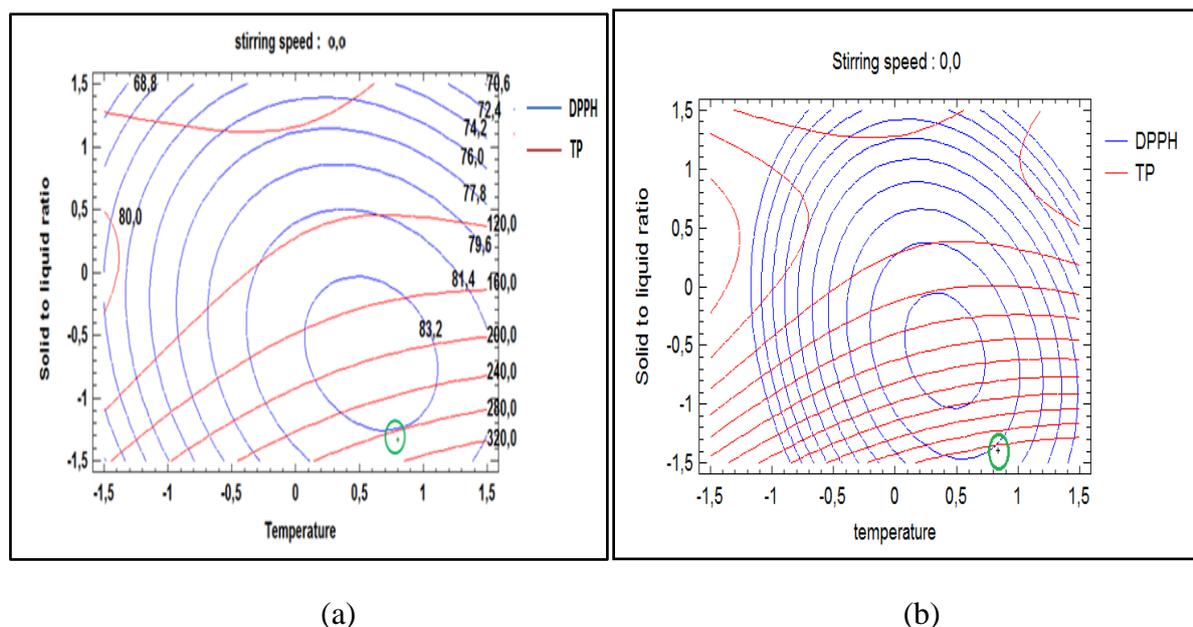


Figure 7.7: Superposition des courbes de réponses de la teneur en polyphénols totaux (TP) et l'activité anti-radicalaire (DPPH) en fonction de la température et du rapport solide-liquide déterminés pour les extraits d'inule visqueuse (mois de Juillet (a) et de Décembre (b)).

7.2.7. Interprétation des résultats de l'optimisation par plan d'expériences

Le rendement optimal en polyphénols mesuré correspond à une valeur moyenne de $343 \pm 1,2$ mg EAG/ g MS (mois de Juillet). Cette valeur est analogue à la quantité rapportée pour certaines autres sources riches en composés phénoliques comme certaines plantes comestibles coréennes (5,44-262,56 mg EAG/g MS) [174], l'Aloe vera (L.) Burm.f. (42,27–219,37 mg EAG/g MV) [239], les pellicules de graines d'arachide (93-230 mg EAG/ g MS) [189], les marcs de pomme (43-1711 mg EAG/ g MS) [240] et le bois de châtaignier (102-209 mg EAG/ g MS) [193]. Pour l'inule visqueuse, l'extraction avec l'éthanol et le méthanol respectivement, rapportent des rendements similaires en polyphénols totaux (274 mg EAG/ g MS et 314 mg EAG/ g MS) [161,122].

Un pouvoir antiradicalaire important, défini par le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, a été enregistré pour tous les extraits aqueux (variant de 71 à 82 % pour l'extrait brut (tableau 7.11)). Les quantités d'anthocyanes récupérés dans notre étude (tableau 7.11) sont proches des valeurs trouvées par Angelov et al. (2014)[241] lors de l'extraction des polyphénols de *Vitex agnus-castus* L (0,38-0,60 mg EM/g MS). Quant aux flavonoïdes, les résultats divulgués par Sriti Eljazi et al. (2018) [242] lors de l'extraction aqueuse des flavonoïdes d'inule visqueuse (10,56 mg EQ/gMS) sont en harmonie avec les résultats de notre étude. Cependant, les travaux de Siti Azima et al. (2017) [175], Chahmi et al. (2015) [121] et Abu-Qatouseh et al.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

(2013) [122] trouvent des rendements en flavonoïdes plus élevés ((48,3- 44,8 -106) mg EQ/g MS) en moyenne respectivement.

L'influence des facteurs opératoires sur les différentes réponses est représentée dans le tableau 7.11. Tous les modèles de surface de réponse ont des coefficients de régression élevés ($> 0,9$). Ceci indique que plus de 90% des résultats expérimentaux sont expliqués par les modèles formels déterminés. Les conditions opératoires utilisées ont une grande influence sur la teneur en composés phénoliques ainsi que sur le potentiel antiradicalaire des extraits obtenus (tableaux 7.11 et 7.12).

L'analyse de la variance, donnée dans le tableau 7.13, indique que le rapport S/L est le facteur le plus dominant pour les différents groupes de polyphénols. La température influe significativement sur le rendement en polyphénols totaux, en flavonoïdes et en anthocyanes, ainsi que sur le pouvoir antiradicalaire. La vitesse d'agitation, quant à elle, exerce un effet négligeable sur les différentes réponses. Les effets quadratiques du rapport S/L et de la vitesse d'agitation affectent le rendement en polyphénols et en anthocyanes. L'interaction température- rapport S /L a montré son influence sur tous les résultats d'extraction.

➤ Effet de la température

Les surfaces de réponses estimées, données dans la figure 7.3, montrent que le rendement en polyphénols, en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire augmentent avec l'augmentation de la température. Cet effet positif est plus important pour un rapport S/L faible montrant ainsi l'interaction négative considérable entre la température et le rapport solide sur liquide.

En effet, pour un rapport S/L de 10 g/L et une vitesse d'agitation de 300 tr/min, l'augmentation du rendement est de 87% et de 155% pour les polyphénols et les flavonoïdes respectivement. Le pouvoir antiradicalaire, quant à lui, augmente de 9% lorsque la température varie de 32°C à 52°C.

Cela s'explique par le fait que la chaleur facilite l'extraction en perméabilisant la paroi cellulaire, en augmentant la solubilité des extraits et en diminuant la viscosité des jus d'extraction [207]. En effet, la viscosité de l'eau diminue de moitié (de $8,33 \cdot 10^{-4}$ à $4,96 \cdot 10^{-4}$ kg/ m/s) en passant d'une température de 28°C (-1,414) à 56°C (+1,414). De même, la tension superficielle de l'eau diminue considérablement avec l'augmentation de la température ce qui suscite la réduction de la tension entre la phase aqueuse et la surface hydrophobe du tissu végétal, favorise le mouillage de la matière végétale et par la même, facilite la pénétration du solvant. La diffusion se trouve ainsi améliorée.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Enfin, les pouvoirs ionisant et dissociant de l'eau sont plus importants à températures élevées du fait de l'accroissement du moment dipolaire et de la constante diélectrique.

Pour des températures inférieures à 60°C, un effet similaire de la température sur le rendement d'extraction des polyphénols et sur le potentiel antiradicalaire de différents substrats végétaux a été observé [185,201, 215, 241-244]. Néanmoins, pour la même gamme de température, Machado et al. (2013) [190] ont observé un effet négatif de la température sur le rendement d'extraction aqueuse des polyphénols de pequi (*Caryocar brasiliense* Camb). Par ailleurs, d'autres travaux ont montré que la température présente un effet positif sur le rendement en polyphénols au-dessous d'une certaine gamme de température. Une température excessive agit, par contre, par dénaturation des produits à extraire [193, 245]. Ainsi, le rendement en polyphénols diminue car des composés inactifs sont extraits [246].

Quant aux anthocyanes, un effet négatif de la température sur le rendement a été enregistré. Ce comportement peut être dû au fait que les anthocyanes sont très instables et très sensibles à la dégradation induite par la lumière, par l'oxygène, par le pH et par la température [247]. Il a été observé que des températures supérieures à 35°C, provoquent la dégradation des anthocyanes [248].

➤ Effet du rapport solide/liquide (S/L)

L'influence négative du rapport S/L sur le taux d'extraction des différents groupes de polyphénols ainsi que sur le pouvoir antiradicalaire est importante. Pour une température de 52°C, en passant d'un rapport S/L de 50 à 10 g/L, le rendement en polyphénols totaux augmente de 118 à 245 mg EAG/ g MS, soit une augmentation de 108% alors que l'activité antiradicalaire augmente de 8%. Cela pourrait s'expliquer par le fait, que pour un rapport S/L élevé, le matériel végétal connaît une surchauffe ce qui entraîne la diminution du rendement d'extraction [249]. De plus, l'augmentation du rapport S/L conduit à une quantité de solvant insuffisante pour la dissolution de la matière soluble existante. Gertenbach (2001) [207] a trouvé qu'un rapport solide/liquide faible engendre un gradient de concentration élevé entre les composés phénoliques piégés à l'intérieur des particules des feuilles de substrat et celles qui sont situées à la surface, ce qui conduit par conséquent à une cinétique d'extraction accélérée. Plusieurs travaux sont en accord avec les résultats trouvés [189, 250-252]. Néanmoins, certains auteurs ont montré qu'il existe une limite dans la diminution du rapport S/L au-dessous de laquelle le rendement reste inchangé voire diminue. Dans notre cas, nous l'avons observé seulement pour des températures faibles. En effet, nous avons constaté, qu'à partir d'un rapport S/L égal à 34g/L, le rendement en polyphénols (mois de Juillet) augmente avec le rapport S/L et ce, pour une température d'expérience de 32°C et une vitesse d'agitation

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

de 200 tr/min (tableau 7.15). Desai et al. (2013) [249] stipulent que, pour une teneur en solvant trop élevée, la chaleur peut être gaspillée dans le chauffage du solvant d'où une réduction de l'efficacité du processus. En outre, l'effet d'hydrolyse peut contribuer à la baisse du rendement. Des résultats similaires ont été trouvés par Angelov et al. (2013) [242].

Tableau 7.15: Influence du rapport S/L sur le rendement en polyphénols.

Conditions opératoires	S/L (g/L)	Rendement en polyphénols (mg EAG/ g MS)
T=32°C ω =200 tr/min t= 2 h	2	195,60
	5	177,83
	10	154,20
	30	101,70
	50	116,40

➤ Effet de la vitesse d'agitation

Les expériences ont été menées avec des vitesses d'agitation comprises entre 60 et 341 tr/min. La vitesse d'agitation influe légèrement sur le rendement d'extraction avec un effet positif. L'influence de l'agitation sur le rendement en polyphénols est plus remarquable pour des températures moyennes et faibles avec des rapports S/L élevés. Pour une température de 32°C et un rapport S/L de 50g/L, nous assistons à une augmentation du rendement de 35% en début d'extraction et de 7 % en fin d'extraction et ce, lorsque la vitesse d'agitation passe de 100 à 300 tr/min. L'influence de la vitesse d'agitation y est moins importante pour des températures et des rapports S/L faibles et négligeable pour des températures élevées et des rapports S/L faibles. En effet, pour une température de 52°C et un rapport S/L de 10 g/L, nous enregistrons une augmentation du rendement de 5% en début de l'extraction et de 0,5 % en fin d'extraction et ce, pour une vitesse d'agitation passant de 100 à 300 tr/min. L'agitation mécanique du milieu considéré permet le maintien en suspension des particules et l'homogénéisation du milieu. Ce paramètre a un effet toujours favorable sur l'opération d'extraction car il permet de réduire la résistance au transfert de solutés au niveau de l'interface solide-liquide (couche limite) et d'augmenter le coefficient de transfert [134, 253]. Bien que la résistance au transfert de masse soit essentiellement liée au solide, la vitesse d'extraction peut être quelque peu augmentée en agitant la phase liquide et en facilitant son écoulement autour des particules du solide. Cependant, nous devons éviter l'excès d'agitation afin d'empêcher la désintégration poussée des particules en suspension.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

➤ Interaction entre les paramètres opératoires

Toutes les interactions sont non significatives à l'exception de l'interaction négative entre la température et le rapport S/L. En effet, pour des rapports S/L faibles, l'influence de la température est très importante et le rendement d'extraction est plus élevé. Pour un rapport S/L élevé, l'influence de la température est beaucoup moins importante voire négligeable. L'influence du rapport S/L est prépondérante. Le rendement d'extraction, par conséquent, est faible.

➤ Influence de la période de cueillette

Pour déterminer l'influence de la période de la récolte sur le rendement en composés phénoliques, nous avons procédé à des extractions solide/ liquide de trois échantillons de la plante sèche, ayant des taux d'humidité similaires (2%) et cueillis à différentes périodes de végétation, en l'occurrence, pendant les périodes de croissance (début Juillet), de floraison (Septembre) et de post-floraison (Décembre).

L'influence des paramètres technologiques étudiés sur les différentes réponses étant la même pour les deux mois de Juillet et de Décembre (tableaux 7.11 et 7.12) néanmoins, les teneurs des différents composés phénoliques du mois de juillet sont relativement plus élevées par rapport à celles du mois de Décembre. Ces dernières sont plus importantes en comparaison avec les valeurs enregistrées pour le mois de Septembre 2018 (tableau 7.16). Un résultat similaire est constaté pour l'activité antiradicalaire. De même, les valeurs donnant l'optimum pour les diverses réponses présentent une différence entre les différents lots étudiés (tableau 7.14).

En effet, la première récolte de la plante a été faite au début du mois de Juillet. Selon Parolin et al. (2013) [99], pendant la période de croissance principale (Mars-Juin), il y a accumulation, dans toutes les parties de la plante, de métabolites secondaires où le maximum est atteint au mois de Juin. A la sénescence des feuilles, cette présence diminue. La teneur en composés phénoliques au mois de Décembre, notre cas d'étude, la fin du cycle végétatif antécédent est plus faible par rapport au mois de Juillet. Quézel et al. (1963) [254] ont décrit, dans leur étude, que le potentiel du contenu en substance stockée dans les feuilles matures de l'inule visqueuse décroît continuellement après la floraison jusqu'à la vieillesse et la défoliation des feuilles.

Même si des rendements en composés phénoliques plus importants ont été trouvés pour le mois de Juillet comparativement au mois de Décembre, cette différence n'est pas trop significative comme prévue. En effet, le rendement en composés phénoliques est affecté par différents paramètres et processus notamment:

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

- les conditions climatiques (ensoleillement ou photopériodisme, température et humidité) sur la matière végétale,
- le cycle végétatif de la plante : la biosynthèse des principes actifs évolue et elle prédomine pendant la période de la croissance,
- l'évaporation accélérée avec l'élévation de la température pendant le stockage. Dans notre cas, la température de stockage est relativement faible et constante, ce processus est donc négligeable,
- la formation, pendant le stockage, de métabolites secondaires, comme, entre autres, des composés terpéniques issus du métabolisme glucidique qui dépend de la température et de la teneur en eau dans les tissus végétaux. Cette fonction particulière des cellules sécrétrices, appelée respiration terpénique, a été observée pour d'autres plantes et rapportée dans la littérature [255].

➤ Effet du couple température - durée de l'extraction

Le couple température/temps d'extraction est un paramètre très important dans l'optimisation économique du procédé d'extraction des substances naturelles. En effet, une bonne maîtrise du couple température/temps d'extraction permet d'éviter la dénaturation des principes actifs de plantes tout en réalisant un gain économique intéressant. Dans le domaine d'étude:

- des couples (température élevée, durée d'extraction longue) produisent les meilleures réponses en flavonoïdes et en pouvoir antiradicalaire,
- des couples (température faible, durée d'extraction longue) aboutissent à des valeurs importantes en anthocyanes.

En ce qui concerne les polyphénols totaux, deux cas peuvent se présenter :

- **cas de rapports solide / liquide moyens à élevés**

Il est recommandé de diminuer la température tout en augmentant la période d'extraction.

Dans le domaine d'étude, nous enregistrons un gain important en température (allant de 9 à 15°C) pour une augmentation de la durée d'extraction d'une moyenne de 27 minutes.

- **cas de rapports solide / liquide faibles**

Il est recommandé d'augmenter la température tout en diminuant le temps d'extraction.

Dans le domaine d'étude, nous enregistrons une augmentation du temps d'extraction du simple au double pour un gain en température de 5°C.

7.3. Influence des conditions opératoires sur l'extraction des composés phénoliques sous les paramètres technologiques optimisés précédemment

En utilisant les conditions optimales d'extraction trouvées précédemment ($T=56^{\circ}\text{C}$, $S/L= 1,72$ g/L, $\omega= 242$ tr/min), nous avons étudié l'influence de la concentration initiale de solvant en composés d'intérêt (polyphénols), du nombre d'extraction et de la nature du milieu d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits d'inule visqueuse.

7.3.1. Influence de la concentration initiale du solvant d'extraction en polyphénols et du nombre d'extraction.

a. Extraction par l'eau distillée initialement chargée à différentes concentrations

Plusieurs essais d'extraction solide/liquide, sur le lot du mois de Septembre 2018, ont été réalisés sous les conditions optimales d'extraction sus-citées et à des temps choisis aléatoirement. Avant établissement de l'équilibre, les filtrats riches en composés phénoliques sont récupérés et réutilisés pour de nouvelles extractions solide/liquide. Pour chaque nouvelle extraction, le temps est fixé à deux heures et le rapport S/L à 1,72 g/L. Les résultats de cette étude sont consignés dans le tableau 7.16 et schématisés par les histogrammes de la figure 7.8.

Tableau 7.16 : Réponses d'extraction en fonction de la concentration initiale du solvant en polyphénols totaux.

Numéro Extrait	Conditions d'extraction		Réponses d'extraction (à t=2h)			
	Solvant	TP (mg EAG/g MS)	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/ g MS)	Anthocyanes (mgEM/g MS)	Activité antiradicalaire (%)
0	Eau distillée (Solvant frais)	0	198	15	0,72	75
1	Eau distillée initialement chargée	45	215	20	1,20	78
2		92	234	27	1,40	82
3		102	160	10	0,54	75

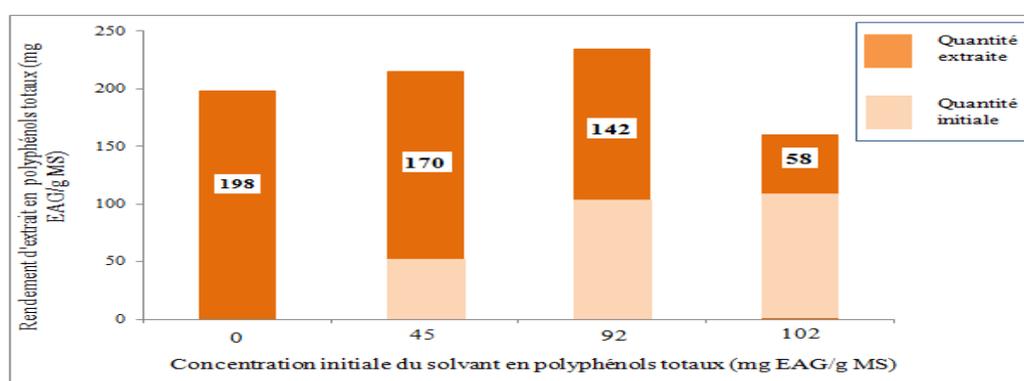


Figure 7.8 : Quantité de polyphénols extraite en fonction de la concentration initiale du solvant en polyphénols totaux.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

b. Extraction successive par de l'eau distillée suivie d'eau d'extraction initialement chargée à différentes concentrations.

Considérons une extraction simple avec une masse « m » durant un temps global « t ». Le solvant d'extraction est frais (eau distillée). Nous allons comparer le résultat de cette extraction simple avec des extractions successives (n extractions). Chaque extraction utilise une masse (m/n) durant un temps (t/n). A chaque nouvelle extraction, l'extrait filtré de l'étape (i) sera réutilisé comme solvant d'extraction ayant une concentration (C_i) pour l'étape (i+1).

Les résultats de cette approche sont mentionnés dans le tableau 7.17 et illustrés par les histogrammes de la figure 7.9.

Tableau 7.17: Réponses d'extraction successive par l'eau distillée à différentes concentrations.

Numéro Extrait	Conditions d'extraction				Réponses d'extraction (à t=2h)			
	Solvant	T (°C)	S/L (g/L)	ω (tr/min)	Polyphénols totaux (mg EAG/g MS)	Flavonoïdes (mgEQ/g MS)	Anthocyanes (mgEM/g MS)	Activité anti-radicalaire (I%)
0	Eau distillée (Solvant frais)	56	1,72	242	198	15	0,72	75
t=2 h								
1	Eau distillée (Solvant frais) puis Eau distillée initialement chargée 1	56	2*0,86	242	215	18	0,83	78
		Extraction 1 : t=0-1h Extraction 2 : t=1-2h						
2	Eau distillée (Solvant frais) puis Eau distillée initialement chargée (1, 2,3)	56	4*0,43	242	220	19	0,75	82
		Extraction 1 : t=0-30 min Extraction 2 : t=30-60min Extraction 3 : t=60-90 min Extraction 2: t=90-120 min						

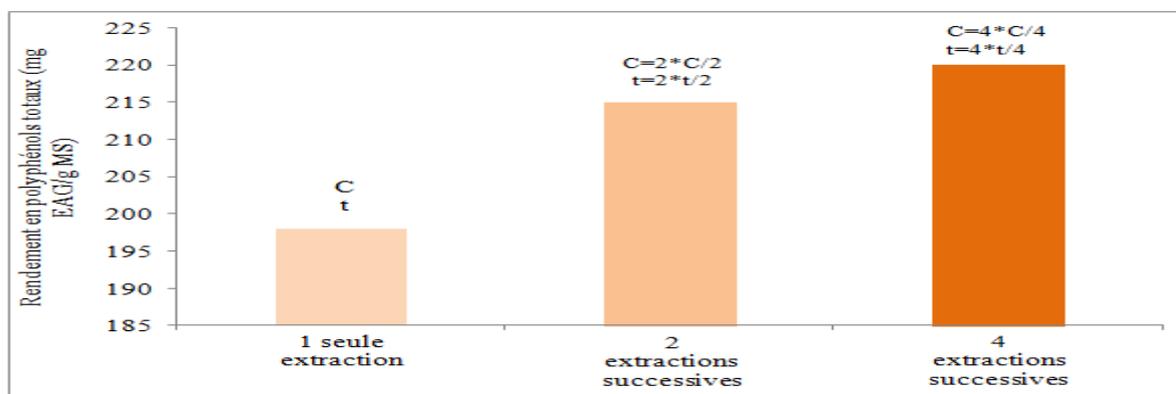


Figure 7.9 : Quantité de polyphénols extraite en fonction du nombre d'extraction (C : charge, t : temps d'extraction).

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

7.3.2. Influence de la nature du milieu d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et sur le pouvoir antioxydant.

Le pH de la solution d'extraction est un paramètre très important dans l'optimisation de la quantité et de la qualité des extraits phénoliques. En effet, certains composés phénoliques sont particulièrement sensibles à la variation du pH [256]. Néanmoins, très peu de travaux ont été consacrés à l'étude de l'influence du pH sur le rendement en composés phénoliques ainsi sur l'activité antiradicalaire. C'est dans cette optique, que nous avons, dans cette partie de notre travail, étudié l'influence de la nature du milieu d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et sur les propriétés antioxydantes des extraits aqueux d'inule visqueuse.

a. Méthodologie

La variation du pH du milieu d'extraction s'est faite par le biais de l'utilisation de différentes solutions (tableau 7.18). Les extractions ont été assurées aux conditions optimales de température, de rapport solide/liquide et de vitesse d'agitation précédemment trouvées ($T = 56^{\circ}\text{C}$, $S/L=1,72 \text{ g/L}$, $\omega= 242 \text{ tr/min}$).

Pour ce faire, un volume de 15 mL de chaque solution est ajouté au solvant d'extraction (volume d'eau distillée : 1500 mL), soit un rapport volumique de 1%. Après un temps d'extraction de 4 heures, les extraits récupérés sont filtrés et conservés à 5°C pour analyses ultérieures.

Tableau 7.18: Solutions utilisées pour l'étude de l'influence du pH sur l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse.

Solution	Chlorure d'hydrogène (HCl)	Hydroxyde de Sodium (NaOH)	Solution Tampon pH=4 Hydrogéné Phthalate de Potassium (KHP)	Solution Tampon pH=10 Hydrogéné Carbonate de Sodium (NaHCO_3)
Caractéristiques				
Masse volumique (g/cm^3)	1,19	2,1	1,6	2,2
Solubilité dans l'eau à 20°C (g/L)	720	1070	80	87

b. Résultats de l'étude

b.1. Paramètres qualitatifs

-Propriétés physico-chimiques des extraits d'inule visqueuse

Sept extractions avec différentes solutions en milieux acide, neutre et basique ont été réalisées. La figure 7.10, ci-dessous, met en évidence le changement de couleur des extraits obtenus en fonction de la nature du milieu d'extraction. Le tableau 7.19, ci-dessous, met en relief certaines autres propriétés physico-chimiques de ces extraits.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

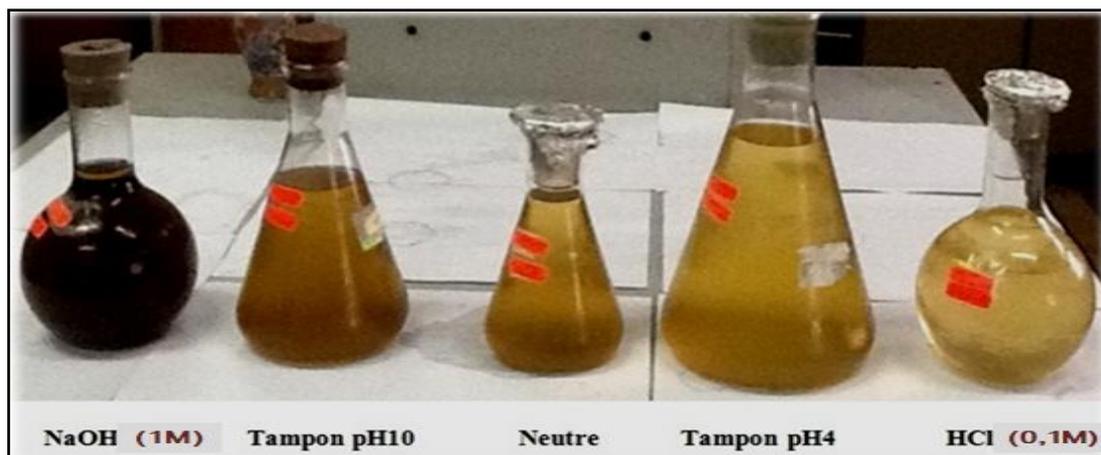


Figure 7.10: Variation de la couleur des extraits aqueux récupérés en fonction de la nature du milieu d'extraction.

Tableau 7.19: Propriétés physico-chimiques des extraits d'inule visqueuse.

Extrait Solvant d'extraction	Couleur	Masse volumique à 20°C (g/cm ³)	Viscosité dynamique (mPa.s)	Présence de précipité	Odeur
Eau distillée	Jaune marron foncé	1,11	1,55	-	Forte
1% HCl (0,1M)	Jaune marron clair	1,16	2,09	-	Forte
1% NaOH (1M)	Marron foncé	1,23	3,69	+	Très forte
1% NaOH (0,1M)	Marron clair	1,15	2,99	-	Forte
1% NaOH (0,01M)	Jaune marron foncé	1,12	2,24	-	Forte
1% Tampon pH=10	Marron clair	1,21	3,23	-	Très forte
1% Tampon pH= 4	Jaune marron foncé	1,14	2,27	-	Forte

- Evolution du pH des extraits d'inule visqueuse en fonction du temps d'extraction

Le suivi de l'évolution du pH (à T=56°C) des extraits d'inule visqueuse au cours de l'extraction est donné par la figure 7.11.

Pour tous les extraits d'inule visqueuse à l'exception de l'extrait en milieu acide (1% HCl (0,1 M)), nous remarquons une chute du pH en fonction du temps. Cette diminution du pH est remarquable au début de l'extraction (au cours de la première heure d'extraction) où le pH diminue de 33% au maximum (cas de l'extrait en solution tampon à pH=10). Une diminution faible de 5%, comme valeur minimale (cas des deux extraits avec eau distillée et avec 1% de

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

NaOH (1M)), a été enregistrée. Après une heure d'extraction, la chute du pH est moins importante voire négligeable, on parle alors de stabilité du pH. Contrairement à la chute du pH observée pour les différents extraits, l'extrait avec 1% de HCl (0,1M), présente une augmentation du pH de 45% au cours de la première heure d'extraction, cette valeur du pH reste maintenue en fin d'extraction (après 4h d'extraction).

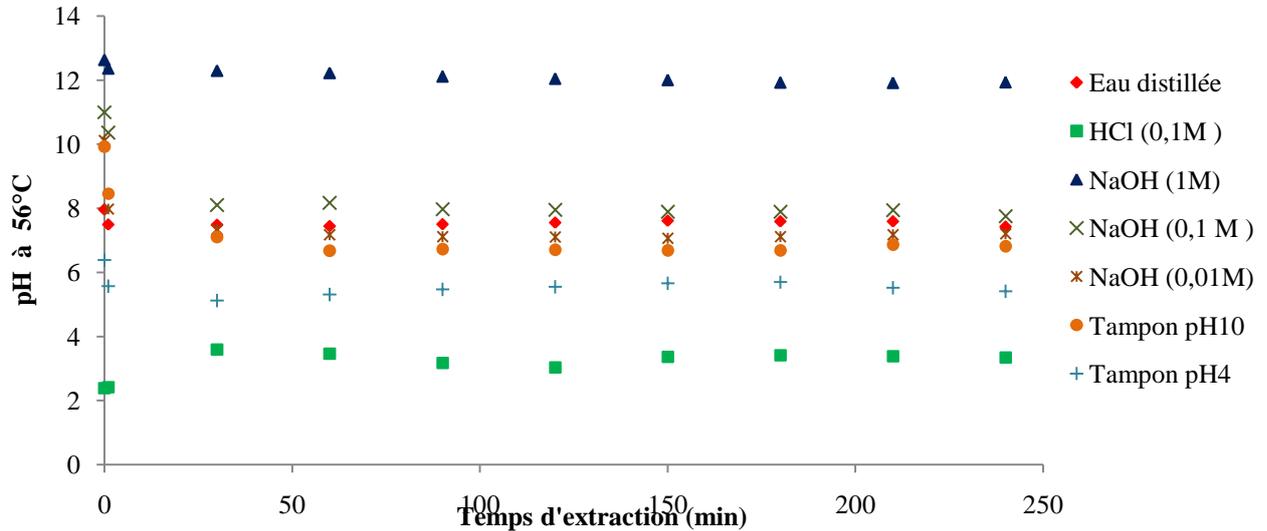


Figure 7.11: Evolution du pH des extraits d'inule visqueuse en fonction du temps d'extraction.

b.2. Paramètres quantitatifs

- Détermination de la quantité de composés phénoliques des extraits bruts

Les résultats de la mesure des concentrations en polyphénols totaux pour les différents extraits sont donnés dans le tableau 7.20. Le tableau 7.21, quant à lui, donne les teneurs en flavonoïdes et en anthocyanes des extraits bruts d'inule visqueuse.

Tableau 7.20: Rendement final en polyphénols totaux des extraits d'inule visqueuse.

Numéro de l'extrait	Milieu d'extraction	Conditions de l'extraction					Rendement (mg EAG/ g MS) à t=4h
		T (°C)	S/L (g/L)	ω (tr/min)	pH moyen à t = 0 min	pH moyen à t=30 min	
1	Eau distillée	56	1,72	242	7,9	7,5	343,8
2	1% HCl (0,1M)	56	1,72	242	2,4	3,6	164,6
3	1% NaOH (1M)	56	1,72	242	12,6	12,3	175,6
4	1%NaOH(0,1M)	56	1,72	242	11,0	8,1	541,3
5	1%NaOH (0,01M)	56	1,72	242	10,1	7,3	241,4
6	1%Tampon pH=10	56	1,72	242	9,9	7,1	687,7
7	1%Tampon pH= 4	56	1,72	242	6,4	5,1	501,1

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 7.21: Teneurs en flavonoïdes et en anthocyanes des extraits bruts.

Extraits	Flavonoïdes			Anthocyanes		
	A (430 nm)	C (μg EQ/mL)	Rdt (mg EQ /g MS)	A (540 nm)	C (μg EM /mL)	Rdt (mg EM/ g MS)
1	0,472	12,42	8,50	0,032	1,55	1,06
2	0,273	7,18	4,91	0,039	1,89	1,29
3	0,45	11,84	8,10	0,007	0,23	0,15
4	0,406	10,68	7,31	0,032	1,03	0,71
5	0,274	7,21	4,93	0,039	1,26	0,86
6	0,353	9,29	6,35	0,051	1,65	1,13
7	0,304	8,00	5,47	0,047	1,52	1,04

-Evolution du rendement d'extraction en polyphénols totaux en fonction du temps d'extraction.

Dans la section 7.2. (Optimisation des paramètres technologiques par plan d'expériences), le temps d'extraction a été fixé à $t=2\text{h}$ où le rendement représentait 97% du rendement final. Dans cette série d'expériences qui suit, nous avons poursuivi nos extractions au delà de 2h car pour certains extraits, le rendement augmente d'une façon trop importante après 2h pour se stabiliser à partir de 4 h d'extraction (figure 7.12).

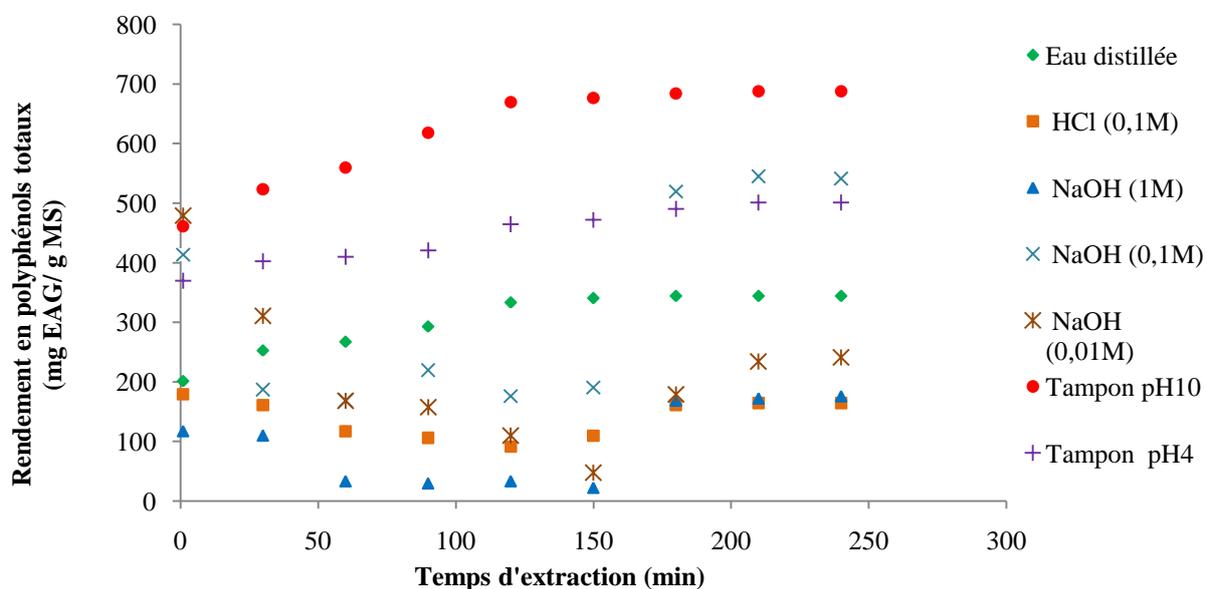


Figure 7.12: Evolution de la teneur en polyphénols totaux en fonction du temps d'extraction.

-Evolution du pouvoir antiradicalaire en fonction du temps d'extraction

La figure 7.13. représente l'évolution de l'activité antiradicalaire en fonction du temps d'extraction pour les différents extraits phénoliques dans les divers milieux d'extraction.

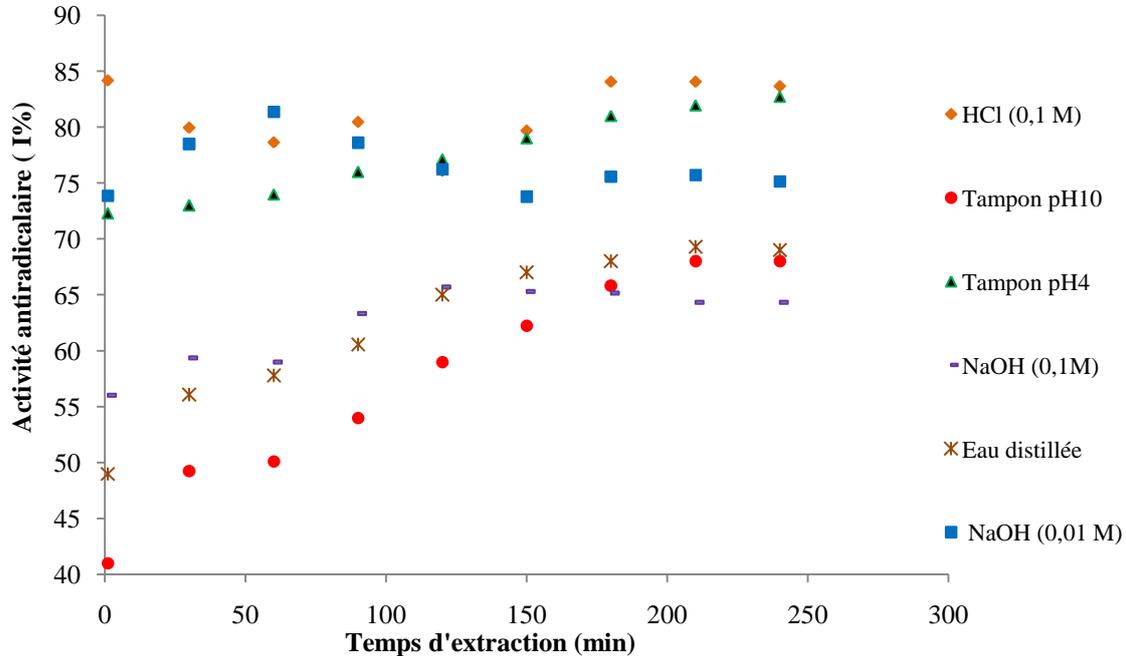


Figure 7.13: Evolution de l'activité antiradicalaire en fonction du temps d'extraction.

7.3.3. Interprétation des résultats de l'étude de l'influence des conditions d'extraction

a. Concentration initiale du solvant en polyphénols totaux et nombre d'extractions

Sur la base de la teneur finale en composés phénoliques, nous constatons, dans le domaine d'étude, que l'extraction par solvant initialement chargé en polyphénols donne un meilleur rendement (au dessous de certaines concentrations initiales en polyphénols) en comparaison avec le rendement d'extraction obtenu par des extractions successives avec l'eau distillée suivie d'eaux d'extraction. Le rendement est plus élevé par rapport à la quantité de polyphénols récupérée avec un solvant frais (eau distillée) en une seule extraction.

Pour l'extraction par solvant initialement chargé en polyphénols, le rendement final cumulé en composés phénoliques accuse une croissance avec l'augmentation de la concentration initiale en polyphénols jusqu'à une valeur critique. Cependant, la quantité de composés phénoliques extraite diminue pour des concentrations initiales en polyphénols croissantes. Cela s'explique par une diminution du gradient de concentration entre la phase liquide et la phase solide jusqu'à l'établissement d'un équilibre entre les deux phases. De plus, nous pouvons attribuer cette diminution de la quantité de composés phénoliques extraite par un

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

recul de solubilité par effet d'ion commun, la solubilité diminuant dans une solution contenant l'un des ions du composé dissous.

b. Influence de la nature du milieu d'extraction

Les figures 7.12 et 7.13. montrent que le pH initial de la solution d'extraction affecte considérablement l'efficacité de l'extraction. Les résultats obtenus pour les extraits (2, 4, 6 et 7) ont révélé que le rendement d'extraction des polyphénols totaux ainsi que la teneur en flavonoïdes augmentent avec l'augmentation du pH initial de la solution d'extraction. Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs [257,258]. Cependant, certains autres auteurs enregistrent un effet négligeable du pH de la solution d'extraction sur la teneur en polyphénols totaux [259] tandis que d'autres montrent un effet négatif du pH de la solution d'extraction sur le rendement en composés phénoliques [260, 261].

Le passage d'un pH acide (extrait 2) à un pH basique (extrait 4) conduit à une augmentation du rendement d'extraction de 229% et de 49% pour les polyphénols totaux et les flavonoïdes respectivement.

Pour la même solution de NaOH ajoutée au solvant d'extraction, le rendement en polyphénols varie en fonction de la concentration de la solution d'hydroxyde de sodium ajoutée. Dans notre cas, la concentration optimale de NaOH, pour un meilleur rendement en polyphénols totaux, est de 0,1 M. Cette valeur est comparable à la valeur rapportée par Loginov et al. (2013) [258] lors de l'extraction des polyphénols de la coque de graines de lin. En effet, pour deux solutions de NaOH (0,1M et 0,3M), ces chercheurs ont trouvé une teneur importante en polyphénols pour une solution aqueuse avec 1% de NaOH (0,3 M) qui est 7% plus élevée que la quantité de polyphénols récupérée avec une concentration de 0,1 M.

Pour la solution d'extraction n°1 (Solution témoin, eau distillée), l'accroissement de la quantité de polyphénols totaux récupérée en fonction du temps est éventuellement dû à la disponibilité de composés phénoliques polaires hydrophiles dans le substrat végétal. Des polyphénols de haute polarité (certains flavonoïdes et anthocyanine glycosides) ont été extraits [47].

L'ajout de la solution d'HydrogénéCarbonate de Sodium à 1% en volume dans l'eau distillée améliore le rendement d'extraction. Ceci est principalement dû à l'augmentation de la solubilité des polyphénols par la présence plus importante de groupes hydroxyles (réaction de déprotonation).

En milieu neutre ou légèrement acide, l'extraction de certains acides phénoliques, d'acides phénoliques liés et d'anthocyanosides par une hydratation rapide du cation 2-phénylbenzopyrylium est favorisée [47].

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

Les groupes phénoliques libres sont moins extractibles en milieu acide, même pour certains acides phénoliques. Selon Librán et al. (2013) [257], cela est dû à l'agrégation des protéines d'une part et à la non dissociation des polyphénols d'autre part, ce qui peut provoquer leur interaction hydrophobe avec les protéines de l'extrait.

Néanmoins, Zam et al. (2012) [261] ont rapporté que le rendement en polyphénols totaux diminue à $\text{pH} > 9$ et pour une solution tampon à $\text{pH}=10$, une dégradation de 25% des polyphénols a été observée. Des résultats similaires ont été rapportés par Sripad et al. (1982) [262]. Ces auteurs expliquent la diminution du rendement de polyphénols à pH basique élevé par l'oxydation des polyphénols en quinones correspondantes en milieu alcalin ($\text{pH} > 9$).

De plus, de nombreux auteurs ont trouvé que la teneur la plus élevée en polyphénols pour l'extraction aqueuse correspond à un pH neutre [263, 264]. De telles affirmations sont en parfaite concordance avec nos résultats. En effet, pour tous les extraits obtenus, le rendement en polyphénols augmente considérablement lorsque le pH de la solution d'extraction devient neutre, légèrement acide ou alcalin.

L'activité antiradicalaire des extraits aqueux récupérés (figure 7.13), quant à elle, dépend largement du pH de la solution d'extraction. D'après les résultats obtenus pour les extraits (1, 2, 4, 6 et 7), nous constatons une amélioration de l'activité antiradicalaire avec la diminution du pH initial de la solution d'extraction. En passant d'un pH acide (extrait 2) à un pH basique (extrait 4), l'activité antiradicalaire diminue de 24%. La même observation est enregistrée pour la teneur en anthocyanes qui décroît de 45%.

Des résultats analogues ont été rapportés par plusieurs auteurs [254,256, 257,261]. Cependant, l'activité antiradicalaire à $\text{pH}=10,1$ (extrait 5) est supérieure de 9% à celle obtenue à $\text{pH}=7,9$ (extrait 1). La composition chimique des extraits peut expliquer un tel résultat. Amendola et al. (2010) [265] recommandent un $\text{pH} < 5$ pour une meilleure activité antiradicalaire des extraits de composés phénoliques.

Pour la même solution de NaOH ajoutée au solvant d'extraction, la puissance antiradicalaire varie en fonction de la concentration de l'Hydroxyde de Sodium ajouté. Dans notre cas, la concentration optimale de la solution de NaOH pour une activité antiradicalaire élevée est de 0,01 M ($I = 77\%$ pour l'extrait brut).

A pH très élevé (extrait 3, pH initial =12,36), la mesure de l'activité antiradicalaire de l'extrait brut par la méthode de DPPH est impossible. Ce phénomène peut être interprété par la présence de certains composés dont les spectres chevauchent avec celles du DPPH à 515 nm ou à la présence d'antioxydants réagissant rapidement avec des radicaux peroxydes et qui

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

réagissent lentement ou peuvent même être inertes au DPPH en raison de l'inaccessibilité stérique [266]. Seule une analyse qualitative peut expliquer un tel comportement.

A cet effet et d'après les résultats expérimentaux, nous constatons l'importance de l'étude de l'évolution du pH de la solution d'extraction en fonction du temps d'extraction. En effet, le pH initial de la solution d'extraction ne peut pas expliquer clairement les variations, dans le temps, de la teneur en composés phénoliques et de l'activité antiradicalaire.

Sur la base de la cinétique d'extraction des polyphénols totaux et de l'évolution du pH de la solution d'extraction en fonction du temps d'extraction, quatre hypothèses peuvent être émises:

- le rendement en polyphénols augmente avec la diminution du pH de la solution d'extraction : Extraction de composés phénoliques acides en majorité,
- le rendement en polyphénols augmente avec la stabilité du pH de la solution d'extraction : Extraction de composés phénoliques acides et basiques et/ou neutres,
- le rendement en polyphénols diminue avec la diminution du pH de la solution d'extraction : Extraction de composés non phénoliques acides et/ou destruction de composés phénoliques acides et libération d'ions H^+ ,
- le rendement en polyphénols diminue avec l'augmentation du pH de la solution d'extraction : Extraction de composés non phénoliques basiques et/ou destruction de composés phénoliques basiques et libération d'ions OH^- .

7.4. Conclusion

L'extraction solide-liquide avec un solvant aqueux, en système batch, est une méthode efficace pour la récupération des polyphénols à caractère antioxydant à partir de l'inule visqueuse cueillie dans l'algérois. L'analyse de surface de réponse a permis d'établir des modèles mathématiques avec des coefficients de régression élevés et de déterminer l'influence des différents facteurs opératoires sur les résultats d'extraction (polyphénols totaux, flavonoïdes, anthocyanes et activité antiradicalaire). En général, l'effet simple de la température, du rapport solide/ liquide et l'interaction température-solide/liquide sont les paramètres les plus influents sur toutes les réponses étudiées ($p < 0,05$). L'optimisation multi-réponses des conditions d'extraction est d'un intérêt crucial dans l'obtention d'un extrait riche en composés phénoliques avec une activité antiaradicalaire élevée.

Le cycle phénologique de la plante influe sur la quantité de composés phénoliques récupérée, sur le pouvoir antiradicalaire, de même sur les conditions optimisant l'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse.

Chapitre 7 : Optimisation de l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse

La maîtrise du couple température/temps d'extraction permet une optimisation économique du procédé d'extraction solide-liquide des composés phénoliques.

Dans le domaine d'étude, le rendement en polyphénols et la teneur en flavonoïdes augmentent pour un pH initial basique. Cependant, un milieu initialement acide améliore la quantité d'anthocyanes et le pouvoir antiradicalaire.

La teneur la plus élevée en polyphénols pour l'extraction aqueuse d'inule visqueuse est récupérée quand le pH de la solution d'extraction évolue vers un milieu neutre ou légèrement acide ou basique. Néanmoins, pour une amélioration de l'activité antiradicalaire et un accroissement du contenu en anthocyanes, un pH acide est recommandé.

Un simple changement du pH de la solution d'extraction a significativement amélioré la quantité de polyphénols extraite, le rendement d'extraction augmente de la valeur de 332,7 mg EAG/g MS à une valeur de 687,7 mg EAG/g MS tandis que l'activité antiradicalaire accuse une croissance de 16%.

L'analyse qualitative des extraits obtenus est fondamentale pour une interprétation claire des résultats expérimentaux et pour la sélection du milieu d'extraction approprié pour un composé phénolique d'intérêt.

CHAPITRE 8:

*Purification des extraits
bruts et détermination des
caractéristiques
antioxydantes*

8.1. Introduction

La purification de composés cibles des extraits de plantes est une étape indispensable pour éliminer les impuretés, les différents types de contaminants et les substances interférentes. Cette étape est nécessaire en vue de l'identification et de la quantification des composés phénoliques pour leurs usages dans différents domaines.

Il existe plusieurs techniques de purification des substances naturelles allant des méthodes les plus simples aux méthodes innovantes.

Dans cette partie du travail, nous avons opté pour une méthode simple qu'est l'extraction liquide-liquide par l'Acétate d'Ethyle.

Le but de cette opération de purification consiste en la concentration de l'extrait brut, en la mesure du pouvoir antiradicalaire et en la détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits d'inule visqueuse en évitant toute interférence entre les composés non phénoliques et les réactifs chimiques utilisés.

8.2. Détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits de la première série d'expériences (Plan composite)

8.2.1. Caractéristiques antioxydantes des extraits bruts du mois de Juillet

Le tableau 8.1 met en relief les valeurs des différents paramètres que sont le pouvoir antiradicalaire (exprimé en pourcentage d'inhibition ($I\%$)), la concentration inhibitrice IC_{50} , la concentration effective CE_{50} , le temps pour atteindre l'équilibre à CE_{50} ($t_{CE_{50}}$) et l'indice d'efficacité antiradicalaire.

Tableau 8.1: Caractéristiques antioxydantes des extraits bruts (Plan composite).

Ordre des expériences	Variables de processus (valeurs réelles et codées)			Potentiel antioxydant				
	X ₁ (°C(-))	X ₂ (g/L (-))	X ₃ (tr/min (-))	I (%)	IC ₅₀ (µg/mL)	CE ₅₀ (mg AO/g DPPH)	t _{CE₅₀} (min)	IEAR (g DPPH°/ (mg AO. min)
1	32(-1)	10(-1)	300(+1)	75	16,0	480	32	0,065
2	32(-1)	10(-1)	100(-1)	75	14,5	420	30	0,079
3	42(0)	58(+1,414)	200(0)	75	15,5	460	30	0,072
4	52(+1)	10(-1)	100(-1)	81	13,0	350	28	0,102
5	42(0)	30(0)	341,4(+1,414)	81	10,0	180	10	0,556
6	42(0)	30(0)	58,6(-1,414)	78	11,0	330	28	0,108
7	27,86 (-1,414)	30(0)	200(0)	71	16,0	480	35	0,060
8	42(0)	2(-1,414)	200(0)	82	11,5	315	25	0,127
9	32(-1)	50 (+1)	300(+1)	73	15,5	450	30	0,074
10	56,14 (+1,414)	30(0)	200(0)	81	11,0	325	27	0,114
11	52(+1)	10(-1)	300(+1)	82	12,0	330	28	0,108
12	52(+1)	50 (+1)	100(-1)	76	13,0	333	29	0,104
13	52(+1)	50 (+1)	300(+1)	76	15,0	350	20	0,143
14	32(-1)	50(+1)	100(-1)	73	14,0	460	33	0,066
15	42(0)	30(0)	200(0)	80	10,5	250	12	0,333
16	42(0)	30 (0)	200(0)	80	10,5	250	12	0,333
17	42(0)	30 (0)	20050)	81	10,5	250	12	0,333
18	42(0)	30 (0)	200(0)	80	10,5	250	12	0,333
Etalons	Acide Gallique (A.G)			92	3,0	60	5	3,333
	Acide Ascorbique (A.As)			91	8,0	100	8	1,250

8.2.2. Caractéristiques antioxydantes des extraits purifiés sous les conditions optimales d'extraction

Afin de déterminer les caractéristiques antioxydantes des extraits purifiés récupérés sous les conditions optimales d'extraction de polyphénols (mois de Juillet et de Décembre), nous procédons à une purification en phase liquide. Trois lavages successifs de la phase aqueuse par le même volume d'Acétate d'Ethyle ont été effectués. Un volume de 150 mL d'extrait (la quantité totale récupérée étant de 1500 mL) est lavé 3 fois par le même volume d'Acétate d'Ethyle soit une utilisation de 450 mL d'Acétate d'Ethyle.

Après purification, 92% des composés phénoliques ont été récupérés pour le mois de Juillet contre 90% pour le mois de Décembre. Une distillation sous vide à l'aide d'un rotavapor Büchi R-210 (BÜCHI Labortechnik AG) a permis de récupérer l'extrait purifié. Une mesure de la concentration totale en polyphénols et de l'activité antiradicalaire ainsi qu'une détermination des caractéristiques antioxydantes des deux lots ont été faites.

a. Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀

La détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀ s'est faite graphiquement par le tracé de l'évolution du pourcentage d'inhibition du radical DPPH (I%) en fonction de la concentration de l'échantillon (figure 8.1). La projection du point I= 50% sur l'axe des abscisses permet d'accéder à la valeur de ce paramètre exprimé en µg/mL.

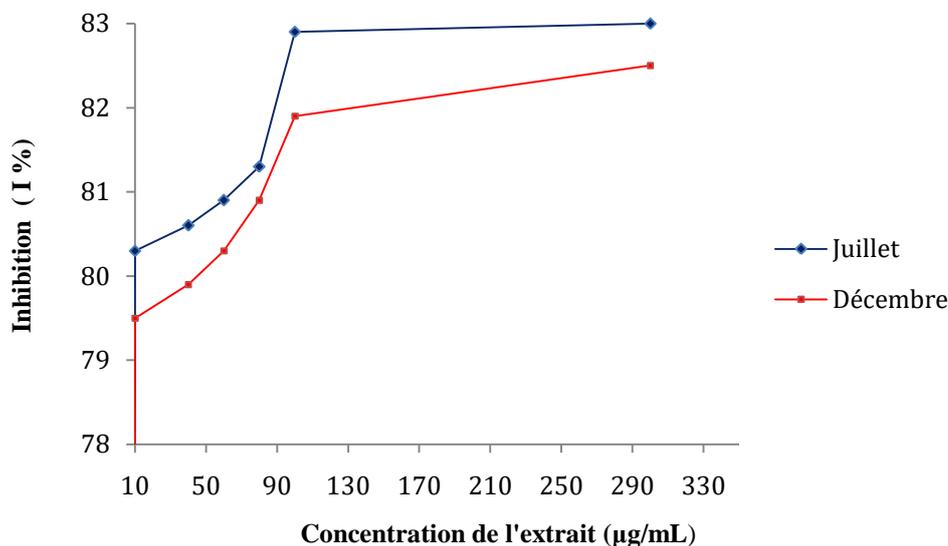


Figure 8.1: Variation du pourcentage d'inhibition (% I) en fonction de la concentration de l'extrait.

b. Détermination de la concentration effective CE₅₀

- Détermination du DPPH résiduel

Pour la détermination de la concentration effective CE₅₀, il faut tout d'abord avoir accès aux valeurs du DPPH résiduel [225]. Ce dernier est calculé par la formule (8.1).

$$DPPH_{rés} (\%) = \frac{C_{DPPH_{eq}}}{C_{DPPH_0}} * 100 \quad (8.1)$$

Où la concentration du DPPH à t=0 (C_{DPPH₀}) et la concentration du DPPH à l'équilibre (C_{DPPH_{eq}}) sont estimées en se référant à la courbe d'étalonnage donnant l'évolution de l'absorbance de la solution du DPPH en fonction de sa concentration

Par le tracé de l'évolution du résidu du DPPH en fonction du rapport (masse extrait (antioxydant) / masse de DPPH), figure 8.2, nous avons déterminé la CE₅₀ au point où le résidu DPPH est égal à 50%. Cette caractéristique s'exprime en mg AO/ g DPPH.

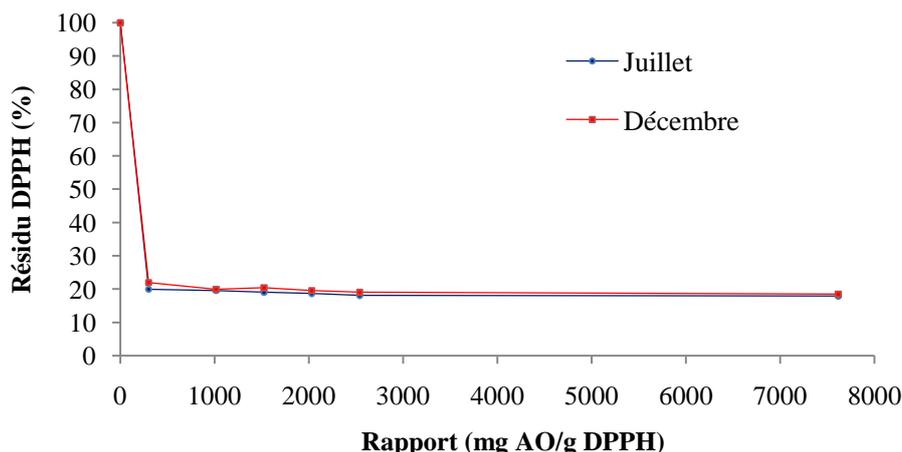


Figure 8.2: Variation du résidu DPPH (%) en fonction du rapport (mg AO/ g DPPH).

c. Détermination du temps $t_{CE_{50}}$

La variation de l'activité antiradicalaire des extraits purifiés (mois de Juillet et de Décembre) en fonction du temps, pour les différents milieux d'extraction pour une concentration d'extrait égale à CE_{50} , est donnée en figure 8.3.

La projection du point « pourcentage d'inhibition (activité antiradicalaire) égale à 50% » sur l'axe des abscisses permet d'accéder à la valeur de $t_{CE_{50}}$ exprimé en minutes.

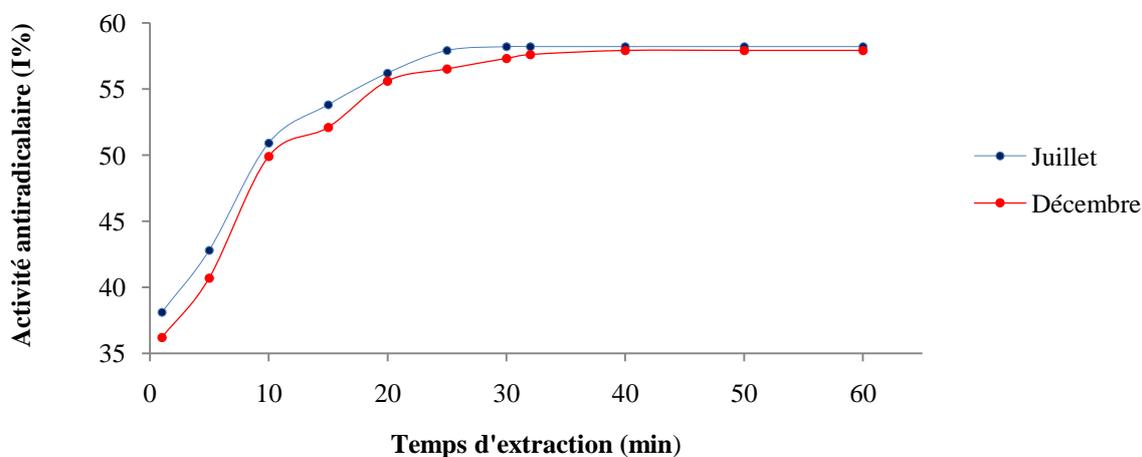


Figure 8.3: Variation du pouvoir antiradicalaire en fonction du temps pour les mois de Juillet et de Décembre.

Après purification des extraits des deux lots étudiés (Juillet et Décembre), nous avons procédé de nouveau à une mesure du rendement en composés phénoliques et du pouvoir antiradicalaire. La concentration inhibitrice, la concentration effective de même que le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre à CE_{50} sont déterminés graphiquement. A partir de ces données, nous calculons l'indice d'efficacité antiradicalaire (tableau 8.2).

Tableau 8.2: Caractéristiques antioxydantes des extraits purifiés sous les conditions optimales d'extraction.

Lot	Essai	Paramètres opératoires			Réponses (Extrait purifié)					
		T (°C)	S/L (g/L)	Ω (tr/min)	Rdt polyphénols (mg EAG/ g MS)	I(%)	IC ₅₀ (µg/mL)	CE ₅₀ (mg AO/g DDPH)	t _{CE₅₀} (min)	IEAR (g DPPH. / (mg AO. min))
Juillet	1	50	3	217	267	90	5,0	125	8,0	1,00.10 ⁻³
	2	50	3	217	265	90	4,8	120	7,8	1,10. 10 ⁻³
	3	50	3	217	272	90	5,2	130	8,2	0,94. 10 ⁻³
	M*	50	3	217	268	90	5,0	125	8,0	1,00. 10 ⁻³
Décembre	1	51	2	220	246	89	6,5	129	10,0	0,77. 10 ⁻³
	2	51	2	220	252	89	7,1	134	9,8	0,76. 10 ⁻³
	3	51	2	220	248	88	6,8	136	9,5	0,77. 10 ⁻³
	M*	51	2	220	249	89	6,8	133	9,8	0,77. 10 ⁻³

* : M est la moyenne des trois essais.

L'extrait purifié, sous les conditions optimales d'extraction (mois de Juillet), appartient au groupe d'antioxydant à moyenne activité antiradicalaire (IEAR = 1.10⁻³ g DPPH°/mg AO.min) tandis qu'avec un indice d'efficacité antiradicalaire de 0,77.10⁻³ g DPPH°/mg AO.min, l'extrait du mois de Décembre appartient au groupe d'antioxydants à faible activité antiradicalaire [223].

8.3. Détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits de la deuxième série d'expériences (Différents milieux d'extraction)

8.3.1. Détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits bruts

a. Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀

Pour la détermination de ce paramètre, nous avons suivi la même méthode que celle évoquée en (a) du sous chapitre 8.2.2. Les valeurs, ainsi trouvées, sont consignées dans le tableau 8.3.

Chapitre 8 : Purification des extraits bruts et détermination des caractéristiques antioxydantes

Tableau 8.3: Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀ des extraits bruts (Différents milieux d'extraction).

C (µg/mL)	20	40	60	80	100	150	200	300	350	IC ₅₀ (µg/mL)
Extrait 1	40	70	73	75	76	76	76	76	76	22,1
Extrait 2	81	85	86	86	86	86	86	86	86	5,6
Extrait 3	La sensibilité du photodétecteur du spectrophotomètre utilisé ne permet pas d'obtenir des valeurs fiables pour des absorbances supérieures à 2 [211].									
Extrait 4	3	20	45	62	64	64	64	64	64	61,7
Extrait 5	73	77	78	78	78	78	78	78	78	7,4
Extrait 6	20	53	67	69	71	71	71	71	71	43,1
Extrait 7	30	74	78	83	84	84	84	84	84	19,7
BHT	30	40	50	60	69	90	91	92	92	60,0
Acide Gallique	86,7	86,9	87,3	88,4	90,1	90,0	91,0	91,0	91,0	14,0
Acide Ascorbique	65,2	69,3	72,9	87,4	88,1	90,0	90,6	90,7	90,7	12,0

b. Détermination de la concentration effective CE₅₀

La figure 8.4 donne l'évolution du DPPH_{rés} (%) en fonction du rapport (mg AO/ g DPPH), Pour les différents milieux étudiés. La CE₅₀ se détermine au point où le résidu DPPH = 50%.

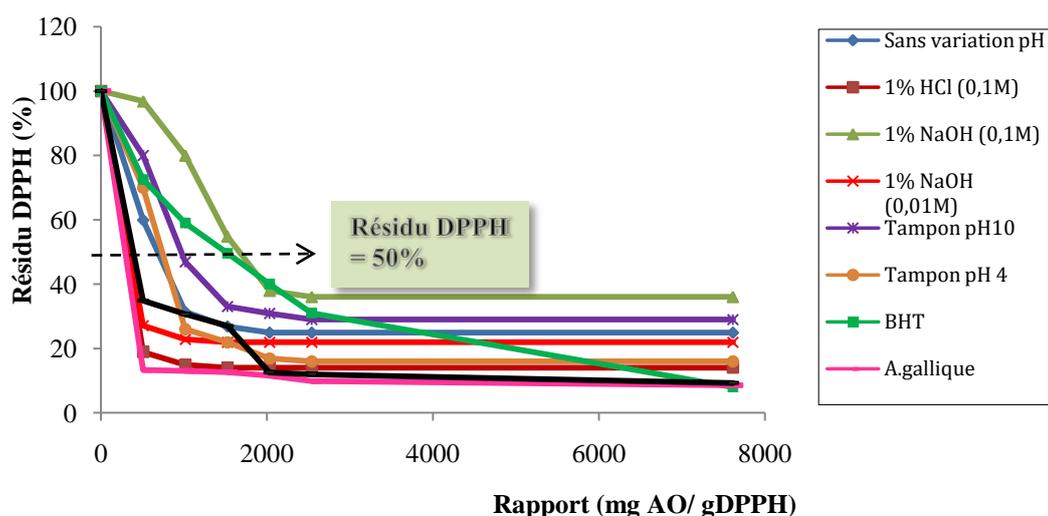


Figure 8.4: Variation du résidu DPPH (%) en fonction du rapport masse extrait (antioxydant) / masse de DPPH(mg AO/ g DPPH).

Le tableau 8.4 met en relief les valeurs de la CE₅₀ ainsi déterminées et ce, pour les différents milieux considérés.

Tableau 8.4: Concentration effective CE₅₀ des extraits bruts (différents milieux d'extraction).

Extrait	1	2	4	5	6	7	BHT	A.G	A.As
CE ₅₀ (mgAO/g DPPH)	700	267	1700	400	1000	740	1522	267	400

c. Détermination du temps $t_{CE_{50}}$

La variation de l'activité antiradicalaire des extraits bruts en fonction du temps, pour les différents milieux d'extraction, pour une concentration d'extrait égale à CE_{50} , est donnée par figure 8.5.

La projection des valeurs d'activité antiradicalaire sur l'axe des abscisses permet ainsi de déterminer, le temps $t_{CE_{50}}$, de la réaction entre DPPH et l'échantillon, nécessaire pour réduire la concentration initiale du DPPH de 50% ($t(50\%)$) ainsi que le temps requis pour atteindre l'équilibre à CE_{50} (t_{eq}).

Le tableau 8.5 résume les valeurs ainsi obtenues pour les différents extraits issus des différents milieux d'extraction.

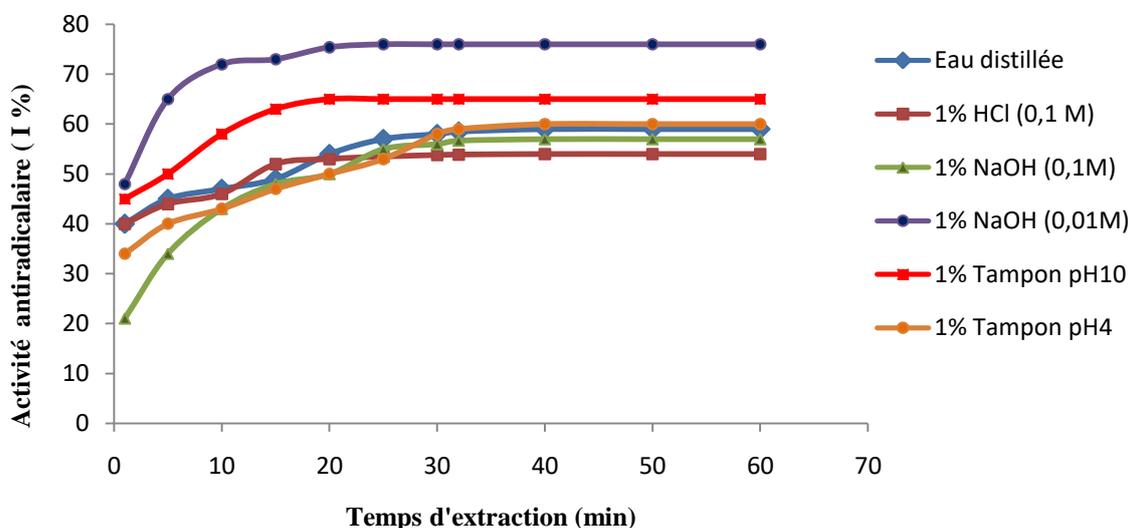


Figure 8.5 : Variation de l'activité antiradicalaire en fonction du temps pour les différents extraits bruts issus des différents milieux d'extraction.

Tableau 8.5: Récapitulatif des valeurs trouvées pour $t_{CE_{50}}$ et t_{eq} (extraits bruts, 2^{ème} série d'expériences).

Extrait	1	2	4	5	6	7	BHT	A.G	A.As
$t(50\%)$ (min)	16,0	12,0	20,0	2,0	5,0	20,0	12,0	0,8	1.0
t_{eq} (min)	38	35	34	24	18	35	20	5	10

d. Détermination de l'indice d'efficacité anti-radicalaire

L'indice d'efficacité anti-radicalaire se calcule par la relation 8.2.

$$IEAR = \frac{1}{CE_{50} * t_{CE_{50}}} \text{ (g DPPH/ mg AO.min)} \quad (8.2)$$

Ainsi , nous déterminons l'indice d'efficacité antiradicalaire qui correspond à la réduction de la concentration initiale du DPPH de 50% (IEAR(50%)) de même que celui relatif à l'équilibre à CE_{50} (IEAR (éq)). Les valeurs calculées sont regroupées dans le tableau 8.6.

Tableau 8.6: Indice d'efficacité antiradicalaire des extraits bruts (différents milieux d'extraction) et des antioxydants standards.

Extrait	1	2	4	5	6	7	BHT	A.G	A.AS
IEAR (50%). 10^3	0,09	0,31	0,03	1,25	0,20	0,07	0,05	4,68	2,50
IEAR (ég) $\cdot 10^3$	0,04	0,11	0,02	0,10	0,06	0,04	0,03	0,75	0,25

Les extraits testés ont été classés suivant la classification proposée par Sanchez-Moreno et al. (1998) [223] : l'activité anti-radicalaire est faible pour $IEAR < 1 \cdot 10^{-3}$, intermédiaire entre $1 \cdot 10^{-3} - 5 \cdot 10^{-3}$, élevée entre $5 \cdot 10^{-3} - 10 \cdot 10^{-3}$, très élevée pour $IEAR > 10 \cdot 10^{-3}$

Les extraits bruts d'inule visqueuse récupérés, sous les conditions d'extraction appliquées, appartiennent, de ce fait, au groupe d'antioxydants de faible à moyenne activité antiradicalaire.

8.3.2. Purification des extraits bruts de la deuxième série d'expériences

L'extraction liquide-liquide repose sur la différence d'affinité d'un produit d'intérêt « A » entre deux phases liquides non miscibles de densité différente : une phase organique et une phase aqueuse (l'Acétate d'Ethyle et l'Eau). Cette extraction s'est faite en utilisant le montage expérimental de la figure 8.6.

Nous mettons en présence, dans une ampoule à décanter, l'extrait brut et le solvant d'extraction. Après dégazage, agitation soutenue et séparation des deux phases par décantation, nous procédons à la collecte de la phase aqueuse plus dense puis ensuite à celle de la phase organique, moins dense. Nous effectuons un deuxième puis un troisième lavage de la phase aqueuse. A chaque fois, nous mélangeons les phases organiques. Par la suite, à la fin de l'extraction, la 3^{ème} phase contient la totalité des polyphénols récupérés dans la phase organique.

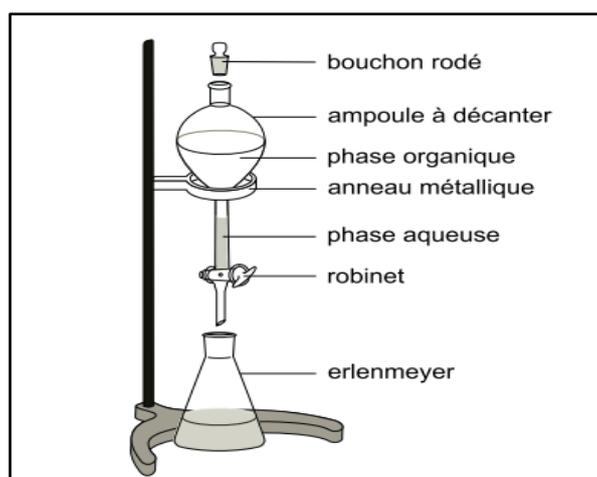


Figure 8.6: Schéma de principe de l'extraction liquide-liquide [217]

Les paramètres caractérisant l'extraction liquide-liquide des composés phénoliques sont consignés dans le tableau 8.7.

Chapitre 8 : Purification des extraits bruts et détermination des caractéristiques antioxydantes

Tableau 8.7: Purification des extraits bruts (Différents milieux d'extraction).

Extraits (solution d'extraction)	Paramètres	Avant extraction	1 ^{ère} extraction	2 ^{ème} extraction	3 ^{ème} extraction
Sans variation du pH (eau distillée)	V (mL)	100	98	94	88
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	502,67	139,04	112,30	65,88
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,050	0,014	0,011	0,006
	m extraite (milieu organique) (g)	0,000	0,037	0,040	0,044
	% récupéré (milieu organique)	0,00	73,00	79,00	88,00
1% HCl (0,1 M)	V (mL)	150	145	140	135
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	240	76	43	30
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,036	0,011	0,006	0,004
	m extraite (milieu organique)(g)	0,000	0,025	0,031	0,032
	% récupéré (milieu organique)	0,00	70,00	85,00	88,00
1% NaOH (1M)	V (mL)	150	149	142	138
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	256,68	66,31	48,66	35,40
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,0385	0,0099	0,0069	0,0049
	m extraite (milieu organique) (g)	0,000	0,029	0,032	0,034
	% récupéré (milieu organique)	0,00	74,34	82,05	87,31
1% NaOH (0,1M)	V (mL)	100	95	90	86
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	791,44	219,25	100,53	67,59
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,0791	0,0208	0,0090	0,0058
	m extraite (milieu organique) (g)	0,00	0,06	0,07	0,07
	% récupéré (milieu organique)	0,00	73,68	88,57	92,66
1% NaOH (0,01M)	V (mL)	100	95	90	86
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	352,94	112,30	85,56	57,75
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,0353	0,0107	0,0077	0,0050
	m extraite (milieu organique) (g)	0,000	0,025	0,028	0,030
	% récupéré (milieu organique)	0,00	70,00	78,00	86,00
1% Tampon pH =10	V (mL)	150	149	144	142
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	1005,35	219,25	181,82	62,78
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,15	0,03	0,03	0,01
	m extraite (milieu organique) (g)	0,00	0,12	0,12	0,14
	% récupéré (milieu organique)	0,00	78,22	82,55	94,06
1% Tampon pH =4	V (mL)	150	160	160	155
	C (milieu aqueux) (µg/mL)	732,62	51,55	45,13	38,61
	m extraite (milieu aqueux) (g)	0,110	0,008	0,007	0,006
	m extraite (milieu organique) (g)	0,000	0,102	0,103	0,104
	% récupéré (milieu organique)	0,00	92,50	93,44	94,56

8.3.3. Distillation sous vide par l'évaporateur rotatif

À l'issue d'une synthèse ou d'une extraction, le composé d'intérêt peut se trouver en solution dans un solvant organique qu'il faut éliminer. La distillation est la principale méthode utilisée. Néanmoins, un liquide bout lorsque sa pression de vapeur saturante est égale à la pression extérieure ce qui engendre souvent des températures d'ébullition élevées. Cette dernière peut être abaissée par réduction de la pression imposée.

Une distillation sous pression réduite permet de distiller :

- des composés dont le point d'ébullition sous pression atmosphérique est élevé et impossible à atteindre avec les moyens de chauffage « classiques »,

Chapitre 8 : Purification des extraits bruts et détermination des caractéristiques antioxydantes

- des composés « fragiles » qui se dégradent thermiquement (cas des polyphénols) ou qui s'oxydent à l'air (cas des anthocyanes).

La distillation sous vide à l'aide de l'évaporateur rotatif, de marque Büchi R-210 (BÜCHI Labortechnik AG), figure 8.7, a permis d'éliminer l'Acétate d'Ethyle de l'extrait purifié. Pour ce faire, nous avons mélangé, dans un ballon, un volume de la phase organique récupéré, après la troisième extraction liquide-liquide (pour chaque extrait), à 10 mL d'eau distillée pour éviter que les polyphénols ne collent aux parois. La distillation sous vide a duré 30 à 45min sous une température fixée à 40°C. En fin de distillation, l'extrait concentré reste dans le ballon plongeant dans un bain d'eau thermostaté et l'Acétate d'Ethyle est recueilli dans le ballon de récupération.

Pour chaque extrait aqueux récupéré, une mesure de la concentration totale en polyphénols et de l'activité antiradicalaire ainsi qu'une détermination des caractéristiques de l'extrait en tant qu'antioxydant ont été faites. Les résultats sont donnés dans le tableau 8.8.

Notons que dans le tableau 8.8, les abréviations *CPT* et *mPT* désignent respectivement la concentration et la masse des polyphénols totaux.

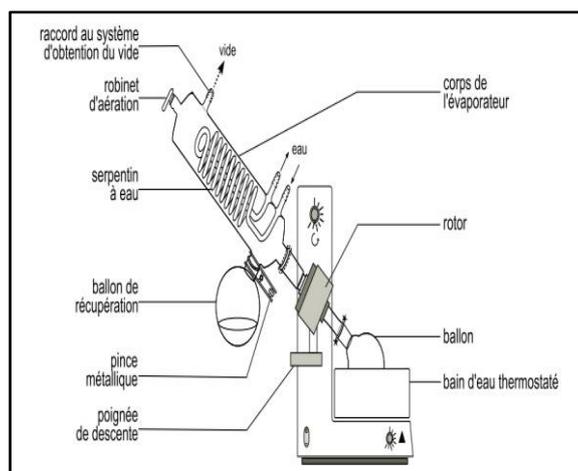


Figure 8.7: Schéma de principe de l'évaporateur rotatif [217]

Tableau 8.8: Teneur en polyphénols totaux après purification et distillation sous vide.

Teneur en polyphénols totaux		Extraits purifiés d'inule visqueuse						
		Sans variation pH	1% HCl (0,1M)	1% NaOH (1M)	1% NaOH (0,1M)	1% NaOH (0,01M)	1% Tampon pH 10	1% Tampon pH 4
Après extraction liquide-liquide	CPT (µg/mL)	440	213	227	730	300	933	693
	mPT (g)	0,044	0,032	0,034	0,073	0,03	0,14	0,104
	%/ mPT (initiale)	88	89	87	92	86	93	95
Après distillation sous vide	CPT (µg/mL)	433	203	205	706	289	920	652
	mPT (g)	0,043	0,030	0,031	0,071	0,029	0,138	0,098
	%/ mPT (initiale)	87	85	81	89	83	92	89

8.3.4 Détermination des caractéristiques antioxydantes des extraits purifiés

a. Détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀

La détermination de la concentration inhibitrice IC₅₀ au point I = 50% s'est faite sur la base du tracé de l'évolution du pourcentage d'inhibition (I%) en fonction de la concentration de l'échantillon (figure 8.8).

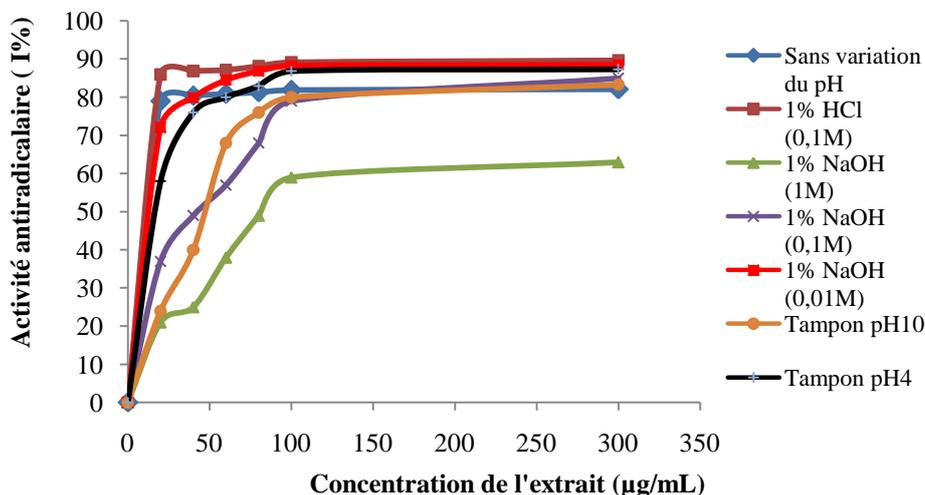


Figure 8.8: Variation de l'activité antiradicalaire en fonction de la concentration de l'extrait purifié d'inule visqueuse (Différents milieux d'extraction).

Le tableau 8.9 regroupe toutes les valeurs de la concentration inhibitrice IC₅₀ des extraits purifiés issus de différents milieux d'extraction.

Tableau 8.9: Concentration inhibitrice IC₅₀ des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).

Extrait	1	2	3	4	5	6	7	BHT	A.G	A.As
IC ₅₀ (µg/mL)	13,0	9,5	80,0	58,0	13,0	43,0	15,0	60,0	3,0	8,0

b. Détermination de la concentration effective CE₅₀

La figure 8.9 donne l'évolution du DPPH_{rés} (%) en fonction du rapport (mg AO/ g DPPH) pour les différents extraits purifiés. La CE₅₀ se détermine au point où le résidu DPPH = 50%.

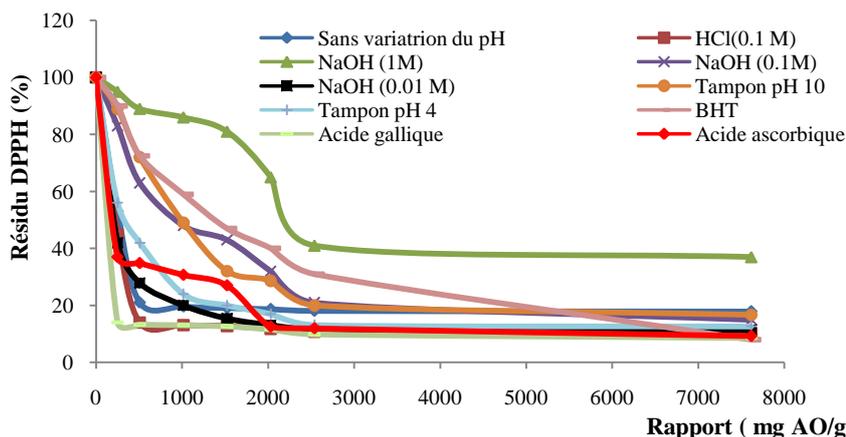


Figure 8.9: Variation du résidu DPPH (%) en fonction du rapport (mg AO/ g DPPH).

Les résultats de cette détermination sont donnés en tableau 8.10.

Tableau 8.10: Concentration effective CE_{50} des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).

Extrait	1	2	3	4	5	6	7	BHT	A.G	A.As
CE_{50} (mg AO/g DPPH)	260	220	2000	800	190	900	340	1300	60	100

c. Détermination du temps $t_{CE_{50}}$

La variation de l'activité antiradicalaire des extraits purifiés en fonction du temps, pour les différents milieux d'extraction pour une concentration d'extrait égale à CE_{50} , est donnée par figure 8.10.

La projection des valeurs d'activité antiradicalaire sur l'axe des abscisses permet ainsi de déterminer, le temps $t_{CE_{50}}$, de la réaction entre DPPH et l'échantillon, nécessaire pour réduire la concentration initiale du DPPH de 50% (t (50%)) ainsi que le temps requis pour atteindre l'équilibre à CE_{50} ($t_{\text{éq}}$) (tableau 8.11).

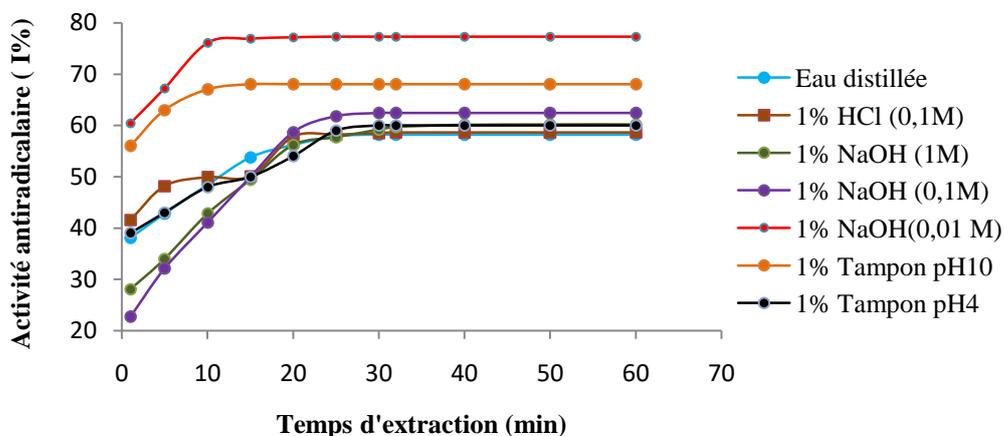


Figure 8.10 : Variation de l'activité antiradicalaire des extraits purifiés en fonction du temps d'extraction (Différents milieux d'extraction).

Tableau 8.11: Temps caractéristique t_{CE50} des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).

Extrait	1	2	3	4	5	6	7	BHT	A.G	A.As
t (50%) (min)	12,0	8,0	16,0	15,0	0,8	1,3	15,0	12,0	0,8	1,0
t éq (min)	28	25	50	29	18	15	28	20	5	8

d. Détermination de l'indice d'efficacité anti-radicalaire

Pour les différents extraits purifiés issus des différents milieux d'extraction, nous donnons, dans le tableau 8.12, l'indice d'efficacité antiradicalaire.

Tableau 8.12: Indice d'efficacité anti-radicalaire des extraits purifiés (Différents milieux d'extraction).

Extrait	1	2	3	4	5	6	7	BHT	A.G	A.As
IEAR (50%).10^3	0,32	0,57	0,03	0,08	6,58	0,85	0,20	0,06	4,68	2,50
IEAR (éq).10^3	0,14	0,18	0,01	0,04	0,29	0,07	0,11	0,06	3,33	1,25

8.4. Comparaison entre les caractéristiques antioxydantes des extraits bruts et purifiés avec les caractéristiques des antioxydants synthétiques

Le tableau 8.13 récapitule toutes les caractéristiques antioxydantes des extraits bruts et purifiés et met aussi en relief celles des antioxydants synthétiques. Toutes ces valeurs consignées, dans ce tableau 8.13, vont nous permettre de situer les extraits bruts et purifiés, obtenus sous diverses conditions, par rapport aux antioxydants synthétiques de type BHT, A.G et A.AS.

Tableau 8.13: Caractéristiques antioxydantes des extraits bruts et purifiés (Différents milieux d'extraction).

Nature	Caractéristiques	Extrait							Antioxydants synthétiques		
		1	2	3	4	5	6	7	BHT	A.G	A. As
Extrait brut	I (%)	72,0	84,0	/	65,0	77,0	71,0	81,0	92,0	91,0	90,7
	IC ₅₀ (µg/mL)	22,0	5,6	/	62,0	7,4	43,0	19,7	60,0	3,0	8,0
	CE ₅₀ (mg AO/g DPPH)	700	267	/	1700	400	1000	740	1522	60	100
	t _{CE50} (éq) (min)	38	35	/	34	24	18	35	20	5	8
	IEAR (éq). 10^3 (g DPPH/ mg AO.min)	0,04	0,11	/	0,02	0,10	0,06	0,04	0,03	3,33	1,25
Extrait purifié	I (%)	82,0	89,7	63,0	85,0	88,5	83,3	87,4	92,0	91,0	90,7
	IC ₅₀ (µg/mL)	13,0	9,5	80,0	58,0	13,0	43,0	15,0	60,0	3,0	8,0
	CE ₅₀ (mg AO/g DPPH)	260	220	2000	800	190	900	340	1300	60	100
	t _{CE50} (éq) (min)	28	25	50	29	18	15	28	20	5	8
	IEAR (éq). 10^3 (g DPPH/ mg AO.min)	0,14	0,18	0,01	0,04	0,29	0,07	0,11	0,06	3,33	1,25

Les concentrations inhibitrices IC₅₀ déterminées pour la deuxième série d'expériences varient de 5,6 à 80 (µg AO/ mL)), tableau 8.13. Elles restent inférieures aux valeurs rapportées par Chahmi et al. (2015), Siti Azima et al. (2017) et Do et al. (2013) [121, 175, 187]. Elles sont néanmoins supérieures aux valeurs trouvées pour certains antioxydants puissants (Acide Gallique (AG) : 3µg/mL , Acide Ascorbique (A.As) : 8µg/mL).

Chapitre 8 : Purification des extraits bruts et détermination des caractéristiques antioxydantes

L'indice d'efficacité antiradicalaire pour tous les extraits purifiés est inférieur à 1.10^{-3} g DPPH°/mg AO.min. Les extraits aqueux d'inule visqueuse récupérés, sous les conditions d'extraction (T=56°C , S/L= 2,58/1,5 g/L , ω = 242 tr/min) à pH différents, appartiennent de ce fait au groupe d'antioxydants à faible activité antiradicalaire.

8.5. Conclusion

La purification des extraits bruts d'inule visqueuse améliore le pouvoir antiradicalaire. Les caractéristiques antioxydantes des extraits récupérés sont comparables aux propriétés des antioxydants puissants (Acide Gallique et Acide Ascorbique). Avec une efficacité antiradicalaire IEAR $\leq 10^{-3}$ g DPPH °/ mg AO.min, les extraits purifiés appartiennent au groupe des antioxydants à activité antiradicalaire faible à moyenne. Cependant, malgré l'amélioration du potentiel antioxydant de l'extrait final par extraction liquide-liquide en utilisant l'Acétate d'Ethyle, la substitution de ce procédé de purification par une méthode propre alternative, comme la purification en phase solide ou l'utilisation de procédés de séparation à membrane sur la base de l'osmose ou l'ultrafiltration est préférée, en particulier, si le composé extrait trouve des applications dans les domaines alimentaire ou pharmaceutique. Malheureusement par faute de moyens techniques, ces méthodes n'ont pas été utilisées.

Les études expérimentales et comparatives (comparaison avec les résultats des travaux antérieurs : chapitre 4) ont prouvé la richesse de l'inule visqueuse en composés phénoliques avec un rendement très important, une activité antiradicalaire puissante et des caractéristiques antioxydantes comparables aux caractéristiques des antioxydants puissants.

CHAPITRE 9:

*Modélisation du phénomène
de transfert de matière*

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

9.1. Introduction

L'extraction des composés actifs est un système intégré d'unités et de courants inter-reliés. L'intégration de processus est une approche holistique de la conception de processus qui met l'accent sur l'unité du processus et considère les interactions entre les différentes opérations unitaires. Il y a trois éléments clés dans toute méthodologie complète d'intégration de processus: la synthèse, l'analyse et l'optimisation [267].

Plusieurs techniques sont tirées de l'analyse holistique, en particulier la modélisation de processus qui consiste à comprendre les phénomènes d'un processus donné et à transformer cette compréhension en un modèle. Ce modèle est une abstraction d'une opération de processus utilisée pour établir, modifier, améliorer, contrôler et répondre aux questions liées à ce processus.

Un modèle mathématique peut être développé en utilisant des approches fondamentales ou des méthodes empiriques. Le modèle théorique utilise des principes fondamentaux pour simuler les mécanismes internes d'un processus, tandis que le modèle empirique utilise directement les données de processus pour établir des corrélations mathématiques. En conséquence, il offre un aperçu plutôt limité des principes fondamentaux impliqués. Cependant, le modèle empirique fournit une excellente base pour l'ajustement des courbes et permet une représentation en fonction des propriétés physiques et des conditions de processus du milieu d'extraction et du matériel végétal extractif [268].

9.2. Données expérimentales pour la construction des modèles mathématiques

9.2.1. Etude cinétique

Une étude cinétique de l'évolution de la quantité de polyphénols extraits en fonction du temps est réalisée. Cette étude consiste à déterminer les étapes d'extraction, à modéliser le phénomène de transfert de masse et à optimiser économiquement le processus d'extraction.

L'étude cinétique concerne tous les tests de la conception expérimentale afin d'évaluer l'influence des conditions de fonctionnement sur les paramètres des modèles mathématiques étudiés.

Pour différentes conditions de température, de rapport solide /liquide et de vitesse d'agitation, nous avons déterminé la concentration à l'équilibre. Nous avons ainsi laissé l'extraction un temps suffisamment long (8h). Une fois le temps écoulé, nous avons évalué la concentration en soluté dans la phase liquide pour les différents paramètres opératoires. Pour chaque condition d'extraction, trois tests ont été réalisés et les erreurs expérimentales ont été calculées.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Pour cette série d'expériences, le rendement en composés phénoliques commence à se stabiliser à 180 min et à partir de 4 heures d'extraction, le rendement en composés phénoliques reste inchangé. Les courbes obtenues sont caractérisées par une tendance asymptotique prononcée. Cette étude s'est faite sous les conditions opératoires consignées dans le tableau 9.1.

Tableau 9.1: Conditions opératoires appliquées.

Numéro de l'essai	Variables de processus (valeurs réelles et codées)		
	T (°C(-))	S/L (g/L(-))	ω (tr/.min (-))
1	32,00(-1)	10(-1)	300,0(+1)
2	32,00(-1)	10(-1)	100,0(-1)
3	42,00(0)	58(+1,414)	200,0(0)
4	52,00(+1)	10(-1)	100,0(-1)
5	42,00(0)	30(0)	341,4(+1,414)
6	42,00(0)	30(0)	58,6(-1,414)
7	27,86(-1,414)	30(0)	200,0(0)
8	42,00(0)	2(-1,414)	200,0(0)
9	32,00(-1)	50(+1)	300,0(+1)
10	56,14(+1,414)	30(0)	200,0(0)
11	52,00(+1)	10(-1)	300,0(+1)
12	52,00(+1)	50(+1)	100,0(-1)
13	52,00(+1)	50(+1)	300,0(+1)
14	32,00(-1)	50(+1)	100,0(-1)
14	42,00(0)	30(0)	200,0(0)
16	56,00(+1,414)	2(-1,414)	253,0(0,53)

Les courbes de la figure 9.1 schématisent les résultats ainsi obtenus (valeurs moyennes et erreurs expérimentales).

9.2.2. Évaluation du potentiel extractible et détermination du coefficient de partage.

a. Évaluation du potentiel extractible

En extraction solide-liquide, une des principales questions réside dans la détermination de la teneur initiale de la matrice végétale en soluté, aussi appelée le potentiel plante. Cette donnée est essentielle dès lors que l'on veut établir des bilans matières, parler d'efficacité (rendement du procédé) ou comparer des résultats issus d'essais sur différents lots de plante. Pour

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

l'évaluation du potentiel plante, il est communément admis qu'une méthode de référence consiste à mener une extraction dans un Soxhlet [269]. Mais l'utilisation de ce procédé peut générer un problème de dégradation des jus d'extraction lié à la montée en température (surtout pour les composés thermolabiles que sont les polyphénols). En nous inspirant des travaux de Poirot (2007) et de Mebrouk (2009) [269, 270], une autre méthode d'épuisement du substrat solide a donc été utilisée.

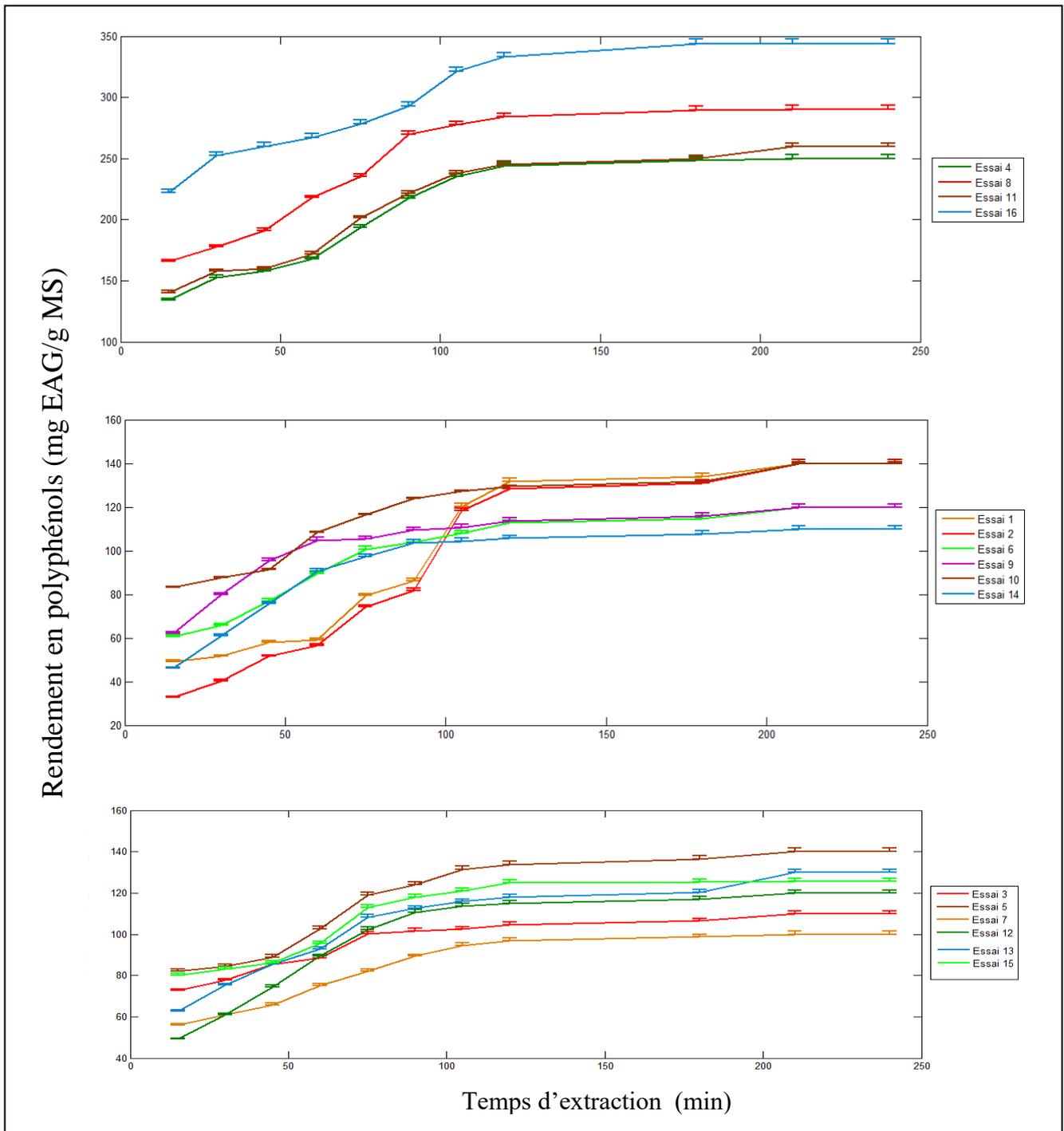


Figure 9.1: Etude cinétique de l'extraction aqueuse des polyphénols d'inule visqueuse.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Le principe consiste en des extractions successives, en mode discontinu, dans un réacteur batch muni d'un agitateur à hélice (IKA RW 28 BASIC). Après chaque extraction, l'extrait est filtré, la masse du solide restante dans le réacteur est lavée une autre fois par le solvant frais (eau distillée). Les conditions d'extraction donnant l'optimum en polyphénols (Plan composite) ($T=56^{\circ}\text{C}$, $S/L= 1,72\text{g/L}$ $\omega= 242\text{ tr/min}$) sont utilisées pour diminuer le nombre de lavages nécessaires à l'épuisement de l'inule visqueuse en composés phénoliques. Le temps de chaque extraction est de 4h (le rendement n'évolue pratiquement pas à partir de 4 heures d'extraction).

Le nombre d'étages d'extraction est déterminé expérimentalement. Nous nous arrêtons lorsque l'absorbance de l'extrait est très faible ce qui ne nous permet pas de déterminer, avec précision, la concentration en polyphénols dans la phase liquide. Le tableau 9.2 met en exergue les retombées de ces extractions successives.

Tableau 9.2: Extractions successives par solvant frais.

Extractions successives	Volume récupéré (mL)	Concentration polyphénols ($\mu\text{g EAG/mL}$)	Masse de polyphénols (g EAG)	Masse totale récupérée (%)
Extraction 1	1495	508	0,76	78,35
Extraction 2	1489	179	0,12	12,37
Extraction 3	1492	119	0,08	8,24
Extraction 4	1495	15	0,01	1,03
Total	5971	/	0,97	100,00

En appliquant ce protocole, nous constatons que la quatrième extraction permet de récupérer l'équivalent d'environ 1% en composés phénoliques. La détermination du potentiel plante peut donc se limiter à trois contacts avec du solvant frais en appliquant un facteur de 1,01 pour tenir compte des pertes estimées contenues dans l'inule visqueuse.

Le potentiel plante ($C_S(0)$) est estimé à **0,376 g EAG/ g MV**.

b. Détermination du coefficient de partage

Le coefficient de partage, pour un système solide-liquide, n'est pas mesuré directement mais il est calculé à partir du rapport de deux grandeurs expérimentales : la concentration à l'équilibre $C_S(\infty)$ dans la phase solide et la concentration à l'équilibre $C_L(\infty)$ dans la phase liquide. Le coefficient K_D est donné par la relation 9.1.

$$K_D = \frac{C_S(\infty)}{C_L(\infty)} \quad (9.1)$$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Le bilan de matière pour un système solide -liquide s'écrit selon la relation 9.2.

$$M_s(0) = M_s(\infty) + M_l(\infty) \quad (9.2)$$

Plusieurs facteurs peuvent influencer le coefficient de partage (K_D): les conditions opératoires (température, pH, hydromodule (ou S/L)), les propriétés de la molécule (taille) et la composition du milieu. Nous avons évalué le coefficient de partage pour les différentes conditions opératoires du plan composite. Les résultats sont donnés dans le tableau 9.3.

Tableau 9.3: Détermination du coefficient de partage (Plan composite).

Numéro de l'essai	Variables de processus (valeurs réelles et codées)			Concentration en polyphénols dans la phase liquide à l'équilibre $C_l(\infty)(g\ EAG/g\ MV)$	Concentration en polyphénols dans la phase solide à l'équilibre $C_s(\infty)(g\ EAG/g\ MV)$	Coefficient de partage (K_D)
	T (°C(-))	S/L (g/L(-))	ω (tr/min (-))			
1	32(-1)	10(-1)	300(+1)	0,134	0,242	1,81
2	32(-1)	10(-1)	100(-1)	0,130	0,245	1,89
3	42(0)	58(+1,414)	200(0)	0,106	0,269	2,55
4	52(+1)	10(-1)	100(-1)	0,248	0,128	0,52
5	42(0)	30(0)	341,4(+1,414)	0,117	0,259	2,21
6	42(0)	30(0)	58,6(-1,414)	0,099	0,277	2,79
7	27,86(-1,414)	30(0)	200(0)	0,098	0,278	2,83
8	42(0)	2(-1,414)	200(0)	0,240	0,136	0,56
9	32(-1)	50(+1)	300(+1)	0,115	0,261	2,27
10	56,14(+1,414)	30(0)	200(0)	0,131	0,245	1,87
11	52(+1)	10(-1)	300(+1)	0,249	0,127	0,51
12	52(+1)	50(+1)	100(-1)	0,116	0,259	2,24
13	52(+1)	50(+1)	300(+1)	0,119	0,257	2,16
14	32(-1)	50(+1)	100(-1)	0,107	0,269	2,51
14	42(0)	30(0)	200(0)	0,127	0,249	1,96
16	56(+1,414)	2(-1,414)	253(0,53)	0,255	0,121	0,47

Le modèle formel ($R^2=0,94$), donnant l'influence des conditions d'extraction sur le coefficient de partage, est décrit par l'équation 9.3 (Logiciel *Statgraphics Centurion XVI* version d'essai).

$$K_D = 2,07 - 0,74 X_1 + 1,21 X_2 + 0,57 X_1 X_2 - 0,73 (X_2)^2 \quad (9.3.)$$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Avec:

X_1 : la température en valeur codée,

X_2 : le rapport S/L en valeur codée.

Seuls les paramètres significatifs ($P < 5\%$) sont considérés dans le modèle décrit par la relation 9.3. Le coefficient de partage (K_D), variant entre 0,47 et 2,83 dans le domaine d'étude, est en concordance avec les résultats rapportés par Mebrouk (2009), Keddous et Haoui (2008), [270, 271]

La température exerce un effet négatif sur le coefficient de partage en améliorant le rendement d'extraction (augmentation de la concentration en phase liquide) [269]. Le coefficient de partage augmente (rendement d'extraction diminue) pour des rapports solide / liquide élevés (faibles hydromodules).

Nous avons constaté par ailleurs, qu'à partir d'un rapport S/L égal à 34g/L, le coefficient de partage cesse de diminuer même en augmentant le rapport solide/liquide et ce, pour une température d'expérience de 32°C et une vitesse d'agitation de 200 tr/min.

9.2.3. Détermination des paramètres intrinsèques.

La partie de la plante utilisée pour l'extraction des composés phénoliques est la feuille d'inule visqueuse. L'étude granulométrique a permis de calculer le diamètre moyen des particules qui est estimé à 273 μm ainsi que le diamètre de la sphère équivalente (diamètre de sauter) qui est estimé à 852 μm . La mesure du taux d'humidité est déterminée par la méthode de Dean Stark et équivaut à 2% en volume. L'étude anatomique de la matière végétale a montré que les produits sécrétés par les feuilles de l'inule visqueuse sont soit exsudés à travers de fins pores dans la cuticule ou soit accumulés au-dessous de la cuticule. Ils sont, par la suite, évacués vers l'extérieur après une légère rupture de la cuticule par un facteur externe [100,101]

9.3. Modélisation de la cinétique d'extraction

Dans ce contexte, nous avons considéré l'application de trois approches différentes de modèles mathématiques:

Dans un premier temps, nous considérons une approche basée sur des équations cinétiques et/ou sur l'application de la loi de Fick en appliquant quatre modèles fondamentaux qui diffèrent par le nombre de constantes de temps, par la localisation de la résistance de transfert de masse, par la prise en compte du régime purement diffusionnel ou par l'association du phénomène de lavage, par la cinétique d'extraction (ordre de la réaction) et par la signification physique du modèle.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Dans un second temps, une approche basée sur l'analogie transfert thermique-transfert de masse, exprimée par l'application du modèle de Crank (1975) [210], est utilisée. Pour ce dernier modèle, deux cas ont été examinés:

- le premier cas, c'est la diffusion interne qui limite le processus d'extraction (deux solutions de Crank ont été vérifiées),
 - le second cas, le transfert de matière se fait simultanément dans et autour de la phase solide.
- La dernière approche porte sur l'utilisation des réseaux de neurones artificiels à des fins aussi de modélisation.

9.3.1. Première approche de modélisation :

a. Données théoriques pour la construction des modèles mathématiques

a.1. Théorie du film

Le modèle est largement utilisé pour la modélisation de l'extraction solide-liquide des substances naturelles [273-277] C'est un modèle avec une constante de temps qui considère seulement le régime de diffusion avec une résistance de transfert de masse située à l'interface. Il est basé sur la deuxième loi de Fick [210] développée dans le chapitre 5 (Approche fondamentale des processus). La simplification de cette deuxième loi de Fick aboutit à la relation 9.4.

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 u}{\partial r^2} \right) \quad (9.4)$$

Un certain nombre d'hypothèses [277, 279] ont été considérées:

- les particules solides sont isotropiques, de même dimension et de même forme (sphères de distance radiale caractéristique R) contenant la même quantité en soluté. Les propriétés intrinsèques du solide ne changent pas durant l'extraction,
- la masse volumique du solide reste constante durant toute l'opération d'extraction,
- la température est constante,
- l'extrait est considéré comme soluté unique ayant des propriétés physiques et diffusionnelles moyennes,
- à l'interface, l'équilibre thermodynamique est atteint quasi-instantanément,
- en prenant en considération la symétrie du problème, la concentration du soluté ne dépend que de la variable spatiale (r) et du temps [280].
- le coefficient de diffusion est constant,
- absence de résistance externe au transfert de matière (agitation parfaite du soluté).

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Pour la résolution de cette équation à dérivées partielles, nous avons utilisé la méthode de séparation de variable. Pour ce faire, nous posons (équation 9.5):

$$U = C(t) \cdot R(r) \quad (9.5)$$

L'équation 9.4 s'écrit alors sous la forme de la relation 9.6.

$$R \frac{dC}{dt} = D \cdot C \cdot \frac{d^2 R}{dr^2} \quad (9.6)$$

Cette équation peut aussi s'écrire sous la forme de l'équation 9.7.

$$\frac{1}{C} \frac{dC}{dt} = \frac{D}{R} \frac{d^2 R}{dr^2} \quad (9.7)$$

Les deux cotés de l'équation 9.7 dépendent d'une seule variable. Elles sont égales à la même constante qui, pour les besoins de l'algèbre, est prise égale à $-\lambda^2 D$. Nous avons donc deux équations différentielles ordinaires (équations 9.8 et 9.9).

$$\frac{1}{C} \frac{dC}{dt} = -\lambda^2 D \quad (9.8)$$

$$\frac{1}{R} \frac{d^2 R}{dr^2} = -\lambda^2 \quad (9.9)$$

Les solutions des équations 9.8 et 9.9 sont représentées par les relations 9.10 et 9.11.

$$C(t) = e^{-\lambda^2 D t} \quad (9.10)$$

$$R(r) = A \sin(\lambda r) + \beta \cos(\lambda r) \quad (9.11)$$

L'équation 9.5 peut alors s'écrire sous la forme de la relation 9.12.

$$U(t,r) = [A \sin(\lambda r) + \beta \cos(\lambda r)] e^{-\lambda^2 D t} \quad (9.12)$$

A et B étant des constantes d'intégration.

Au centre de la sphère $r=0$ donc l'équation 9.12 peut s'écrire sous la forme de l'expression 9.13.

$$U(t) = \beta e^{-\lambda^2 D t} \quad (9.13)$$

Les conditions initiales et aux limites sont données dans la section 9.3.2 [279].

En intégrant entre $t=0$ et t , nous aboutissons à l'équation 9.14.

$$\frac{c_0 - c_t}{c_0} = A \cdot e^{-k \cdot t} \quad (9.14)$$

k étant la constante cinétique incluant le coefficient de diffusion effectif.

Au tout début de l'extraction, l'augmentation du rendement d'extraction est très rapide, nous écrivons alors qu'à $t=0$, $C=C_w$ ou $C/C_0 = C_w/C_0 = b$.

La deuxième étape d'extraction caractérisée par une augmentation exponentielle lente du rendement [210].

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

L'équation du modèle basé sur la théorie du film est donnée par la relation 9.15.

$$\frac{C_t}{C_\infty} = 1 - (1 - b)e^{-k.t} \quad (9.15)$$

C_t et C_∞ s'expriment en mg EAG/g MS) et k en min^{-1} .

a.2. Modèle des deux sites

L'équation cinétique à deux sites proposée par So et Mac Donald (1986) [281] est largement utilisée pour modéliser le processus d'extraction [282,283]. Deux étapes représentent la désorption cinétique: Désorption d'une fraction (f) libérée rapidement à une vitesse rapide définie par la constante de vitesse k_1 et d'une fraction restante lentement libérée ($1-f$) à une vitesse plus lente définie par la constante de vitesse k_2 [284-286]. Ce modèle d'extraction est basé sur le principe que l'élution externe des solutés en surface et dans les cellules brisées est beaucoup plus rapide que la diffusion interne des solutés de l'intérieur des particules vers le solvant. Cette dernière constitue l'étape limitante du mécanisme d'extraction. L'équation du modèle est constituée de deux expressions cinétiques de premier ordre (équation 9.16).

$$C_t = C_{eq} [1 - f \cdot e^{-k_1.t} - (1 - f) \cdot e^{-k_2.t}] \quad (9.16)$$

C_t et C_{eq} s'expriment en mg EAG/ g MS) et k_1, k_2 en min^{-1} .

a.3. Modèle lavage /diffusion

Ce modèle est utilisé pour modéliser la cinétique d'extraction des composés naturels [287]. Il est basé sur le fait que les composants sont dans le protoplasme cellulaire. L'intégrité de la cellule et la position dans la feuille déterminent la disponibilité du composé à extraire [288]. Au début de l'extraction, les composants, plus facilement accessibles, traversent rapidement la solution et forment un très fort gradient de concentration dans le solide près de l'interface provoquant un transfert de masse très rapide qui ne peut s'adapter à la loi de Fick [289]. Pour cette étape, une équation de second ordre est appliquée sous la forme suivante (équation 9.17.

$$\frac{\partial c^w}{\partial t} = k_{2nd} (C_\infty^w - c^w)^2 \quad (9.17)$$

L'intégration de l'équation 9.17 aboutit à l'équation 9.18.

$$C^w = \frac{C_\infty^{w2} k_{2nd} t}{1 + k_{2nd} C_\infty^w t} = \frac{C_\infty^w t}{\frac{1}{k_{2nd} C_\infty^w} + t} = \frac{C_\infty^w t}{t_{1/2}^w + t} \quad (9.18)$$

Le taux d'extraction initial, à $t = 0$, est $R_0^W = k_{2nd} C_\infty^{W2}$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

La deuxième étape montre un mécanisme de diffusion. Selon Stapley (2002) [289], quand les feuilles sont gonflées, les composants trouvés, dans des sites les moins accessibles à l'intérieur des feuilles, ont un profil de concentration qui satisfait aux termes de la solution de loi de Fick (équation 9.19).

$$C_t^d = C_\infty^d (1 - e^{-k_d t}) \quad (9.19)$$

Le modèle final est la combinaison des deux mécanismes dont l'équation cinétique (relation 9.20) est:

$$C_t = \frac{C_\infty^w t}{t_{1/2} + t} + C_\infty^d (1 - e^{-k_d t}) \quad (9.20)$$

C_t , C_∞^w et C_∞^d s'expriment en g/L.

a.4. Partitionnement thermodynamique avec résistance de transfert de masse externe

Ce modèle décrit une extraction contrôlée par un transfert de masse externe dont la vitesse est décrite par un modèle de type de résistance de la forme suivante (équation 9.21).

$$\frac{\partial C_s}{\partial t} = -K_e a_p \left[\left(\frac{C_s}{K_D} \right) - C \right] \quad (9.21)$$

Si la concentration du soluté, dans le fluide en vrac, est faible, la concentration du soluté, dans le liquide, à la surface de la matrice solide sera décrite par un équilibre de distribution K_D . La solution de l'équation 9.21 s'exprime sous la forme de l'équation 9.22.

$$C_s = C_0 \cdot e^{\left(\frac{-K_e \cdot a_p \cdot t}{K_D} \right)} \quad (9.22)$$

Si C_t (liquide) = $C_0 - C_s$ (solide). L'équation 9.22 peut être écrite sous la forme suivante (équation 9.23).

$$\frac{C_t}{C_0} = 1 - e^{\frac{-(K_e \cdot a_p \cdot t)}{K_D}} \quad (9.23)$$

C_t et C_0 s'expriment en mg/g MS.

Ce modèle a été appliqué par plusieurs auteurs [290,291].

b. Résultats de la première approche de modélisation

Le tableau 9.4 donne un aperçu de l'influence des conditions de fonctionnement sur les modèles utilisés dans cette première approche de modélisation.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Tableau 9.4: Impact des conditions de fonctionnement sur les paramètres des modèles de la première approche de modélisation (Plan d'expériences).

Variables de processus (valeurs réelles et codées)			Lavage / Diffusion				Deux sites			Théorie du film	
T (°C(-))	S/L (g/L (-))	ω (tr/min(-))	C_{∞}^w (g/L)	$t_{1/2}(s)$	C_{∞}^d (g/L)	$k_d \cdot 10^{-4}$ (s ⁻¹)	f	k_1 (min ⁻¹)	k_2 (min ⁻¹)	b(/)	k (min ⁻¹)
32(-1)	10(-1)	300(+1)	1,285	40,444	0,312	28	0,081	1,080	0,013	0,081	0,013
32(-1)	10(-1)	100(-1)	1,327	44,165	0,154	12	0,583	0,013	0,012	0,070	0,012
42(0)	58 (+1,414)	200(0)	5,614	5,915	0,978	30	0,528	1,245	0,018	0,528	0,018
52(+1)	10(-1)	100(-1)	1,395	6,224	1,381	85	0,350	1,871	0,016	0,349	0,016
42(0)	30(0)	341,4 (+1,414)	3,165	11,721	0,644	72	0,391	1,254	0,017	0,391	0,017
42(0)	30(0)	58,6 (-1,414)	2,526	10,395	0,555	65	0,685	0,771	0,011	0,304	0,017
27,86 (-1,414)	30(0)	200(0)	2,687	12,334	0,652	32	0,365	1,266	0,018	0,365	0,018
42(0)	2(-1,414)	200(0)	1,63	8,212	0,95	75	0,367	1,236	0,018	0,367	0,018
32(-1)	50(+1)	300(+1)	5,657	11,180	0,759	4,0	0,544	0,086	0,018	0,316	0,024
56,14 (+1,414)	30(0)	200(0)	3,192	6,731	0,875	85	0,439	1,253	0,015	0,439	0,015
52(+1)	10(-1)	300(+1)	1,456	5,000	1,295	90	0,370	1,556	0,015	0,369	0,015
52(+1)	50(+1)	100(-1)	5,183	13,952	0,898	45	0,121	1,188	0,022	0,121	0,022
52(+1)	50(+1)	300(+1)	5,182	7,964	1,034	50	0,318	1,145	0,017	0,317	0,017
32(-1)	50(+1)	100(-1)	5,287	14,525	0,599	3,8	0,484	0,108	0,026	0,108	0,026
42(0)	30(0)	200(0)	3,193	8,7123	0,892	68	0,442	1,108	0,020	0,443	0,019
56 (+1,414)	2(-1,414)	242(0,42)	0,437	9,54	0,116	86	0,519	0,962	0,017	0,574	0,016

c. Interprétation des résultats de la première approche de modélisation.

L'ajustement des modèles proposés a été fait par régression non linéaire en utilisant la commande « cftool » de la boîte à outil (Curve Fitting Toolbox) du logiciel Matlab R2014b.

Les paramètres cinétiques résultant de la modélisation sont donnés dans le tableau 9.4. Les trois modèles (Théorie du film, Lavage/diffusion, Deux sites) ont des coefficients de régression globaux élevés (0,89-0,96) et des erreurs quadratiques moyennes faibles (0,034-0,415) alors que le modèle « Partitionnement thermodynamique avec une résistance de transfert de masse externe » représente mal la cinétique d'extraction des composés phénoliques ($R^2=0,67$) (tableau 9.5)

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Tableau 9.5: Analyse d'erreur pour l'ajustement des données expérimentales (Optimum d'extraction). Première approche de modélisation

Modèle	Conditions opératoires	R ²	RMSE	SSE	NRMSD	δr
Théorie du Film	T=56°C S/L= 1,72 g/L ω = 242 tr/min	0,96	0,034	0,008	0,01	0,62
Deux sites		0,91	0,380	6,067	0,03	1,13
Lavage/diffusion		0,89	0,415	0,012	0,05	1,56
Partionnement thermodynamique avec résistance externe		0,67	0,068	0,123	2,45	9,66

Théorie du Film

Les deux paramètres du modèle augmentent avec l'augmentation de la température. Ceci est dû au fait que la chaleur facilite l'extraction en augmentant le coefficient de diffusion [207]. La constante de vitesse est proportionnelle à la variation du rapport S/L pour des températures élevées. Cependant, pour de faibles températures la constante de vitesse diminue avec l'augmentation du rapport S/L. Le coefficient b évolue dans le même sens de variation du rapport S / L, c'est l'étape rapide caractéristique des particules situées sur la surface externe et dans les cellules brisées. Le tableau 9.4 montre que le coefficient "b" de l'étape rapide est supérieur à celui de l'étape lente "k". Ceci est en accord avec les hypothèses de la «théorie du film» [292]. Ainsi, ces résultats sont similaires aux études précédemment publiées sur la modélisation de l'extraction de composés naturels [273-275]. Cigeroglu et al. (2017) et Segovia et al. (2016)[273,274] trouvent des valeurs de constante de vitesse de $7,400.10^{-2} \text{ min}^{-1}$ et $3,285.10^{-2} \text{ min}^{-1}$ respectivement, valeurs proches des nôtres. Cependant, Velickovic et al. (2005) [275] trouvent des valeurs de constante de vitesse de $1,140.10^{-3} \text{ min}^{-1}$ et de $2,210.10^{-3} \text{ min}^{-1}$ relativement faibles par rapport à celles trouvées dans nos travaux.

Modèle lavage/diffusion

Les concentrations d'équilibre pour les deux étapes de lavage et de diffusion, (C_{∞}^w et C_{∞}^d), ainsi que la constante de vitesse de la partie « diffusion » (k_d) augmentent avec l'augmentation de la température alors que le temps de demi-vie ($t_{1/2}$), lié à l'étape de lavage, est inversement proportionnel à l'augmentation de la température. L'influence du rapport solide/ liquide sur les paramètres du modèle est la même que celle de la température. La constante de vitesse diminue, quant à elle, pour des rapports solide/liquide plus élevés. Linares et al. (2010)[287] ont trouvé des valeurs plus élevées de C_{∞}^w et de C_{∞}^d ($13,9-25,0 \text{ g/L}^{-1}$) et ($18-25 \text{ g/L}$) respectivement (masse initiale de la matière végétale plus importante). Cependant, les valeurs de la constante de vitesse, entre $1,39$ et $1,88. 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, sont moins importantes par rapport aux

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

résultats de notre étude. Ces auteurs ont trouvé que la concentration à l'équilibre, pour la partie lavage, ainsi que la constante de vitesse de l'étape de diffusion évoluent dans le même sens que l'évolution de la température. Néanmoins, l'influence de la température sur la durée de demi-vie associée à la partie lavage et sur la concentration à l'équilibre de la partie diffusion n'est pas similaire aux résultats de cette étude. En effet, la microstructure de la feuille, l'intégrité de la cellule et la position dans la feuille détermineront la disponibilité du composé pour le solvant. Le début de l'extraction est caractérisé par une vitesse rapide qui augmente tout au long de cette première étape et peut être assimilé à un lavage des composants disponibles. Les composants solubles, facilement disponibles sur la surface ou dans la feuille cassée, sont rapidement dissous dans la solution et forment un très grand gradient de concentration dans le solide. La deuxième étape montre un mécanisme de diffusion. Un taux d'extraction plus lent se produit lorsque les feuilles sont déjà gonflées et que les solutés ne sont pas si facilement accessibles. Certains complexes sont formés entre eux ou avec d'autres composants. Leurs rayons hydrodynamiques sont augmentés et les composants se déplacent plus lentement à travers la microstructure des feuilles (parois cellulaires, espaces intercellulaires, etc.) [287].

Modèle de deux sites

Les valeurs de la fraction du soluté facilement disponible (f) (tableau 9.4) sont proches des valeurs trouvées par Nazrul et al. (2012)[290] et plus faibles par rapport aux valeurs citées par Tao et al. (2014) [293]. Les résultats de la constante de vitesse pour la partie rapide (tableau 9.4) sont quelque peu supérieurs aux valeurs des travaux de ces chercheurs. Néanmoins, les valeurs de la constante de vitesse pour la partie lente sont proches des résultats cités par ces auteurs. La constante de vitesse de l'étape rapide est 56 fois plus élevée que celle de l'étape lente (pour l'optimum de l'extraction) ce qui est compatible avec les hypothèses du modèle. L'augmentation de la température fait augmenter les constantes de vitesse des deux étapes d'extraction. En effet, le changement de la température affecte les propriétés physiques du solvant d'extraction qui sont importantes dans le phénomène de transfert de matière. Pour des températures moyennes, l'influence du rapport solide/liquide est négligeable. Cependant, pour des températures faibles l'augmentation du rapport solide/liquide influe négativement sur les constantes de vitesse ce qui impacte négativement le transfert de matière.

9.3.2. Modélisation théorique

a. Données théoriques pour la construction des modèles mathématiques

a.1. Equations [210]

Soit C la concentration de l'espèce diffusante dans le solide. Soit un élément de volume d'une sphère de côtés dr, rdθ, rsindφ. En coordonnées sphériques r, θ et φ et en l'absence de réaction chimique, l'équation de continuité peut s'écrire sous la forme suivante (équation 9.24).

$$\frac{\partial C_s}{\partial t} = \frac{1}{r^2} \cdot \left(\frac{\partial}{\partial r} \cdot \left(Dr^2 \cdot \frac{\partial C_s}{\partial r} \right) \right) + \frac{1}{\sin \theta} \cdot \frac{\partial}{\partial \theta} \cdot \left(D \sin \theta \cdot \frac{\partial C_s}{\partial \theta} \right) + \frac{D}{\sin^2 \theta} \cdot \frac{\partial^2 C_s}{\partial \phi^2} \quad (9.24)$$

Si on se limite aux cas où la diffusion est radiale, l'équation de diffusion, pour un coefficient de diffusion constant, prend la forme 9.25.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 C}{\partial r^2} + \frac{2}{r} \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (9.25)$$

En mettant $u = Cr$, l'équation 9.25 prend la forme de la relation 9.26.

$$\frac{\partial u}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 u}{\partial r^2} \right) \quad (9.26)$$

a.2. Conditions initiales et aux limites [279].

Conditions initiales :

$$t=0 \quad \forall r \quad C_s(r,0) = C_{s0} \text{ et } C_l(0) = 0$$

La concentration du soluté dans la phase liquide est initialement nulle, $C_l(0)=0$, vu que le solvant utilisé est pur (eau distillée). La concentration initiale du soluté dans la phase solide, C_{s0} est exprimée par la quantité maximale de soluté extractible par le solvant.

Conditions aux limites:

Compte tenu du modèle proposé et des paramètres de fonctionnement, les conditions aux limites sont traduites par les relations suivantes:

- au centre de la particule, la concentration du soluté est maximale en raison de la symétrie de la particule (équation 9.27).

$$r = 0 \quad \forall t > 0 \quad \frac{\partial C_s}{\partial r}(t, 0) = 0 \quad (9.27)$$

- à l'interface, il y a un équilibre des concentrations (équation 9.28).

$$C_s(t, r) = K_D C_l(t) \quad (9.28)$$

K_D étant le coefficient de partage.

- à l'interface, nous considérons l'égalité des débits massiques du soluté quittant la phase solide et entrant dans la phase liquide (équation 9.29).

$$-D_s \frac{\partial C_s}{\partial r} \left(\frac{3}{a} \right) = \frac{\partial C_l(t)}{\partial t} H \quad (9.29)$$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

a.3. Résolution des équations de transfert de matière

Le système d'équations, précédemment développé, peut être résolu par différentes méthodes, à savoir: la séparation des variables, la transformée de Laplace et les différences finies. Plusieurs solutions ont été rapportées dans la bibliographie [210] selon le sens du transfert et le domaine temporel.

- Régime non stationnaire, concentration initiale uniforme et concentration surfacique constante (modèle I).

Si la sphère est initialement à une concentration uniforme C_1 et que la concentration superficielle est maintenue constante à C_0 , la solution devient (équation 9.30). :

$$\frac{C-C_1}{C_0-C_1} = 1 + \frac{2a}{\pi r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n} \sin\left(\frac{n\pi r}{a}\right) e^{(-Dn^2\pi^2 t/a^2)} \quad (9.30)$$

La concentration au centre de la sphère est donnée par la relation 9.31.

$$\frac{C-C_1}{C_0-C_1} = 1 + 2 \sum_{n=1}^{\infty} (-1)^n e^{(-Dn^2\pi^2 t/a^2)} \quad (9.31)$$

La quantité totale de substance entrant ou sortant de la sphère est donnée par l'équation 9.32.

$$\frac{M_t}{M_{\infty}} = 1 - \frac{6}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{n^2} e^{(-Dn^2\pi^2 t/a^2)} \quad (9.32)$$

Diffusion dans une sphère plongée dans une solution parfaitement agitée (modèle II)

Une sphère occupant un espace $r < R$ est initialement à une concentration uniforme $C_s(0)$ en soluté. Elle est placée dans une solution agitée de concentration C_0 .

Si le liquide est initialement exempt en soluté $C_0=0$, la solution correspondante est donnée par la relation 9.33.

$$\frac{C_1(t)}{C_1(\infty)} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6(\alpha+1)e^{(-Dq_n^2 t/a^2)} J_0(q_n a/R)}{9+9\alpha+q_n^2 \alpha^2} \frac{J_0(q_n a/R)}{J_0(q_n)} \quad (9.33)$$

Pour $a=R$, l'équation précédente prend la forme de l'équation 9.34.

$$\frac{C_1(t)}{C_1(\infty)} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(\alpha+1)e^{(-Dq_n^2 t/a^2)}}{9+9\alpha+q_n^2 \alpha^2} \quad (9.34)$$

Nous pouvons aussi écrire la relation ci-dessous (équation 9.35).

$$\frac{M(t)}{M(\infty)} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(\alpha+1)e^{(-Dq_n^2 t/a^2)}}{9+9\alpha+q_n^2 \alpha^2} \quad (9.35)$$

Les valeurs de q_n vérifient la condition suivante (équation 9.36).

$$\alpha q_n J_0(q_n) + 2 J_1(q_n) = 0 \quad (9.36)$$

q_n sont les solutions de l'équation 9.37 ci-dessous :

$$\tan q_n = \frac{3 q_n}{3+\alpha q_n^2} \quad (9.37)$$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Avec : $\alpha = \frac{V_1}{PV_s} = \frac{M_1}{PM_s}$ et $K_D = \frac{C_{S(\infty)}}{C_1(\infty)}$ est le coefficient de partage.

Le bilan de matière peut s'écrire sous la forme des équations 9.38, 9.39 et 9.40.

$$M_s(t=0) = M_s(\infty) + M_1(\infty) \quad (9.38)$$

$$C_s(0) \left(\frac{4\pi R^3}{3} \right) = C_s(\infty) \left(\frac{4\pi R^3}{3} \right) + C_1(\infty)V \quad (9.39)$$

$$C_s(0) \left(\frac{4\pi R^3}{3} \right) = C_1(\infty)P \left(\frac{4\pi R^3}{3} \right) + C_1(\infty)V = C_1(\infty)V \left[1 + \frac{P \left(\frac{4\pi R^3}{3} \right)}{V} \right] = C_1(\infty)V \left[1 + \frac{1}{\alpha} \right] \quad (9.40)$$

La fraction échangée après un temps infini est (équation 9.41):

$$\frac{M_1(\infty)}{\left(\frac{4\pi R^3}{3} \right) C_s(0)} = \frac{1}{1 + 1/\alpha} \quad (9.41)$$

Transfert de masse par convection à la surface (modèle III)

La sphère est initialement à une concentration uniforme C_1 , la condition de surface est la suivante (équation 9.42) :

$$-D \cdot \frac{\partial C}{\partial r} = K \cdot (C_s - C_0) \quad (9.42)$$

Avec:

C_s : la concentration dans la sphère (kg/m^3),

C_0 : la concentration requise pour maintenir l'équilibre avec l'atmosphère environnante (kg/m^3).

La solution requise est donnée par l'équation 9.43.

$$\frac{C - C_0}{C_1 - C_0} = \frac{2L \cdot a}{r} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{e^{-D\beta_n^2 t / a^2} \sin \beta_n r / a}{(\beta_n^2 + L(L-1)) \sin \beta_n} \quad (9.43)$$

β_n sont les solutions de l'équation 9.44 .

$$\beta_n \cot \beta_n + L - 1 = 0 \quad (9.44)$$

Avec:

$L = aK/D$: le nombre de Biot pour le transfert de masse,

a : le rayon de la sphère (m)

K : le coefficient global de transfert de masse (m/s)

D : le coefficient de diffusion (m^2/s)

L'expression de la quantité totale de substance diffusante entrant ou sortant de la sphère est (équation 9.45) :

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6L^2 e^{-D\beta_n^2 t / a^2}}{(\beta_n^2 + L^*(L-1))} \quad (9.45)$$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

b. Résultats de la modélisation théorique

La modélisation théorique, sur la base des toutes les équations évoquées, a donné naissance aux courbes des figures 9.2 à 9.4 ainsi qu'aux valeurs mentionnées dans le tableau 9.6.

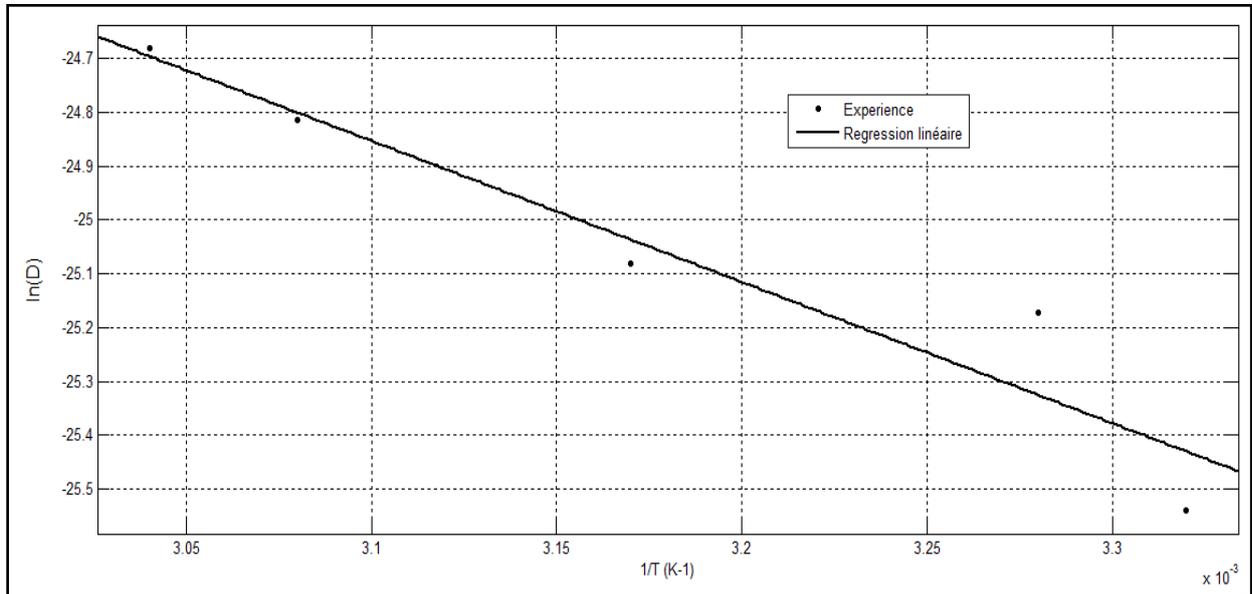


Figure 9.2: Dépendance entre la diffusivité effective et la température.

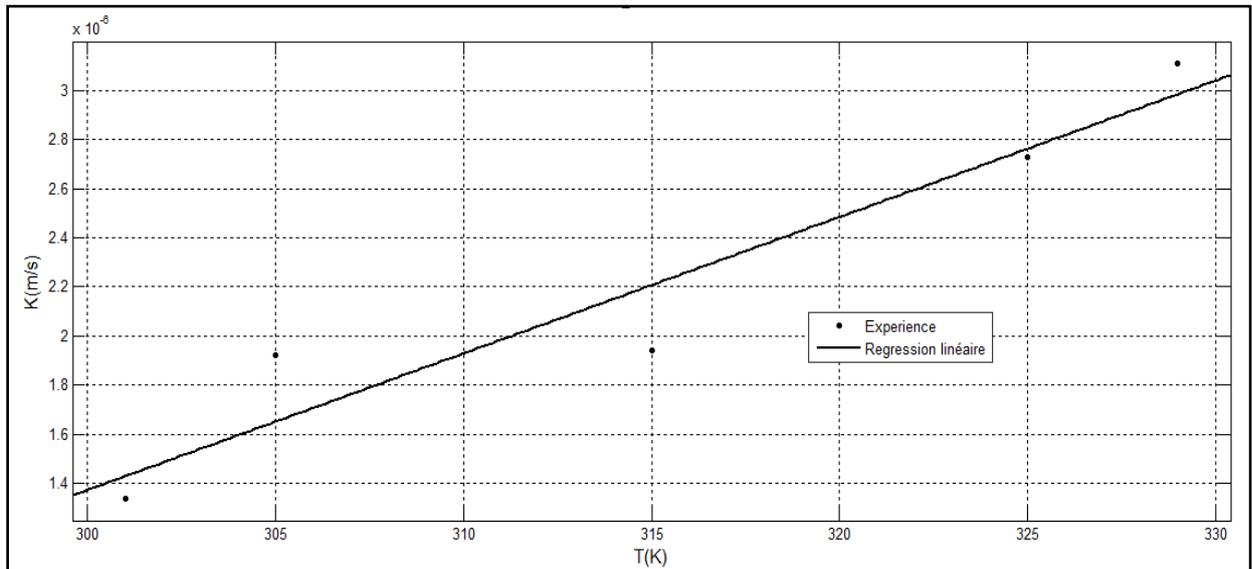


Figure 9.3: Dépendance entre le coefficient de transfert de masse et la température.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

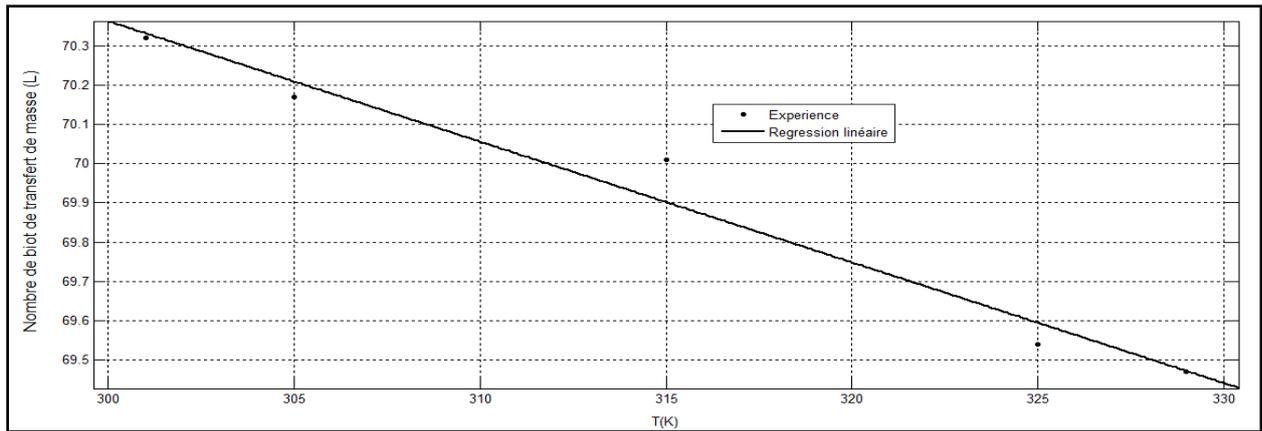


Figure 9.4: Dépendance entre le nombre de Biot massique et la température.

Tableau 9.6: Influence des conditions opératoires sur les paramètres des modèles théoriques et sur les propriétés de transfert de masse (Plan composite).

Essai	Variables de processus (valeurs réelles et codées)			Coefficient de diffusion $D \text{ (m}^2\text{/s). } 10^{12}$			Modèle II		Modèle III		
	T (°C(-))	S/L (g/L (-))	ω (tr./min (-))	Modèle I	Modèle II	Modèle III	α	q	L	β	K (m/s) $\cdot 10^6$
1	32(-1)	10(-1)	300(+1)	5,34	6,45	15,98	3,51	3,00	46,87	2,62	1,76
2	32(-1)	10(-1)	100(-1)	4,54	3,26	13,90	8,22	3,00	47,56	2,43	1,55
3	42(0)	58(+1,414)	200(0)	4,77	5,92	15,04	9,78	3,01	46,67	2,47	1,65
4	52(+1)	10(-1)	100(-1)	2,25	3,07	13,64	9,78	3,01	45,37	2,43	1,45
5	42(0)	30(0)	341,4 (+1,414)	9,07	9,45	9,30	3,50	3,00	69,77	2,83	1,53
6	42(0)	30(0)	58,6 (-1,414)	6,36	8,86	15,80	9,78	3,01	56,62	2,47	2,11
7	27,86 (-1,414)	30(0)	200(0)	6,36	8,29	15,91	9,24	3,00	69,95	2,46	2,61
8	42(0)	2(-1,414)	200(0)	7,16	9,50	20,60	9,91	3,00	91,19	2,46	4,40
9	32(-1)	50(+1)	300(+1)	6,36	4,98	14,80	9,55	3,05	73,28	2,32	2,55
10	56,14 (+1,414)	30(0)	200(0)	6,36	5,88	18,33	9,78	3,00	78,45	2,46	3,37
11	52(+1)	10(-1)	300(+1)	9,54	7,11	31,44	8,16	3,13	91,18	2,41	6,72
12	52(+1)	50(+1)	100(-1)	6,36	5,88	13,53	9,78	3,00	91,18	2,46	2,98
13	52(+1)	50(+1)	300(+1)	7,17	9,34	20,54	9,91	3,00	91,20	2,46	4,39
14	32(-1)	50(+1)	100(-1)	6,36	7,36	18,65	9,91	3,00	92,35	2,46	4,04
15	42(0)	30(0)	200(0)	6,36	5,87	15,45	9,78	3,00	91,18	2,46	3,31
16	56(+1,414)	2(-1,414)	242(0,42)	4,77	5,92	15,04	9,78	3,01	46,67	2,47	1,65

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

c. Interprétation des résultats de la modélisation théorique

Trois modèles théoriques ont été appliqués. Ces modèles sont fréquemment utilisés pour la modélisation de l'extraction de composés actifs à partir de substances végétales. L'ajustement des modèles proposés a été fait par une régression non linéaire. Les paramètres des modèles théoriques ainsi que les propriétés de transfert de masse sont donnés dans le tableau 9.6.

Les trois modèles basés sur la théorie du transfert de matière décrivent les résultats de l'étude cinétique avec des coefficients de régression élevés $> 0,8$ (tableau 9.7).

Tableau 9.7 : Analyse d'erreurs pour l'ajustement des données expérimentales (Optimum d'extraction). Cas de la modélisation théorique.

Modèle	Conditions opératoires	R ²	RMSE	SSE	NRMSD	δr
Modèle I	T=56°C	0,82	0,133	5,467	0,03	1,01
Modèle II	S/L= 1,72 g/L	0,84	0,132	6,896	0,02	0,92
Modèle III	$\omega = 242$ tr/min	0,91	0,086	0,009	0,04	1,40

Le modèle théorique qui considère simultanément les résistances au transfert dans et autour de la phase solide (modèle III) représente mieux les données expérimentales avec un coefficient de régression de 0,91 (tableau 9.7).

Les valeurs des coefficients de diffusion déterminées par les trois modèles théoriques varient entre $2,25-31,44 \cdot 10^{-12}$ m²/s (tableau 9.6) sont similaires avec les résultats rapportés par d'autres auteurs [193 ,294-297]. Elles sont légèrement supérieures à celles trouvées par Bucic'-Kojic et al. (2013)[298] lors de l'extraction de composés phénoliques des pépins de raisin. Par contre, elles sont inférieures aux valeurs citées par Salmi et al. (2017), Wang et al. (2016), Krishnan et al. (2013) et Espinoza-Pe'rez et al. (2006) [299-302].

Selon Reverchon et al. (1993) [303], diverses structures cellulaires ainsi que différents mécanismes d'extraction génèrent diverses résistances de transfert de masse provoquant cette variation des coefficients de diffusion. Selon Roy et al. (1996) [304], les différences dans l'ordre de grandeur des résistances de transfert de masse sont également dues aux paramètres intrinsèques du soluté, tels que la taille moléculaire, la propriété hydrophile, etc.

Les valeurs du coefficient de transfert déterminées par le modèle théorique III sont comprises entre $1,45-6,72 \cdot 10^{-6}$ m/s (tableau 9.6), elles sont proches des valeurs déterminées par Gironi et al. (2011), Wang et al. (2016) et Almeida et al. (2013) [193,300 ,305] mais plus faibles par rapport aux valeurs trouvées par Zermane et al. (2012) [306].

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Les valeurs du nombre de Biot comprises entre 45,37 et 92,35 se situent dans la fourchette des valeurs rapportées par Yildirim et al. (2011) [307]. Par contre, elles sont très élevées par rapport aux valeurs rapportées par Karizaki (2016) [308].

Pour les modèles théoriques et dans le domaine d'étude, pour les mêmes conditions opératoires, nous pouvons conclure que :

- l'augmentation de la température ou du rapport solide/liquide participe à l'augmentation de la diffusivité effective, du coefficient de transfert de matière et à la diminution du nombre de Biot.
- l'influence de la vitesse d'agitation sur les propriétés de transfert de masse est insignifiante.

Les mêmes conclusions peuvent être tirées de plusieurs autres travaux dans le même domaine [295, 302, 309,310]. Les valeurs du nombre de Biot de transfert de masse sont très élevées ce qui confirme l'hypothèse que la résistance au transfert de masse est localisée dans la phase solide. Des résultats similaires ont été mis en évidence par les travaux de différents chercheurs [193,300, 306].

La relation entre le coefficient de diffusion effectif et la température peut être décrite par l'équation d'Arrhenius (équation 9.46).

$$D_{eff} = D_0 e^{-E_a/RT} \quad (9.46)$$

La linéarisation de cette équation aboutit à la relation 9.47. (ci-dessous).

$$\ln(D_{eff}) = \ln(D_0) - E_a/RT \quad (9.47)$$

Le tracé de $\ln(D_{eff})$ en fonction de $(1/T)$ conduit vers la détermination de D_0 et E_a , détermination qui s'est faite par l'utilisation de la commande (cftool) du logiciel MATLAB R2014b. Par conséquent, la dépendance entre le coefficient de diffusion effectif et la température est présentée par l'équation 9.48.

$$D_{eff} = 5,21 \cdot 10^{-8} \cdot e^{-2608/T} \quad (9.48)$$

Si le mécanisme de diffusion a un comportement d'Arrhenius, nous pouvons déterminer E_a à partir de deux valeurs de D_{eff} et de T et nous pouvons écrire (équation 9.49):

$$\ln\left(\frac{D_{eff1}}{D_{eff2}}\right) = -\frac{E_a}{R}\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right) \quad (9.49)$$

E_a est alors déterminée par le biais de l'équation 9.50.

$$E_a = \ln\left(\frac{D_{eff1}}{D_{eff2}}\right) \cdot \left(\frac{R}{\left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}\right)}\right) \quad (9.50)$$

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

L'énergie d'activation correspondante à l'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse peut être déterminée graphiquement ou numériquement par l'équation 9.49 précédente. La valeur moyenne est égale à : $E_a = 25,22$ KJ/mole. Ce résultat est proche de la valeur rapportée par Chaiklahan et al. (2014)[311] à savoir 24 KJ/mole mais inférieure par rapport à la valeur trouvée par Costa et al. (2011) [312] à savoir 37 KJ/mole.

Le phénomène de transfert de masse, lors de l'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse, est donc endothermique (énergie d'activation positive). En effet, la dissolution des principes actifs de plante absorbe de la chaleur par chauffage du solvant d'extraction.

L'équation (9.51) donne la relation entre le coefficient de transfert de masse et la température.

$$K=5,55.10^{-8}T - 1,53.10^{-5} \quad (9.51)$$

L'équation 9.52 met en relief, quant à elle, la relation entre la température et le nombre de Biot de transfert de masse.

$$L= -0,031T + 79,59 \quad (9.52)$$

9.3.3. Validation des modèles de la première et de la deuxième approche de modélisation.

La validation des modèles étudiés a été faite en réalisant deux expériences supplémentaires incluses dans le domaine d'étude mais différentes des expériences du plan composite. De plus pour l'optimum d'extraction, nous avons vérifié la validation des différents modèles en choisissant trois points différents des points de l'étude cinétique et en comparant les valeurs expérimentales avec les valeurs prédites par les différents modèles. Les valeurs des paramètres opératoires, les erreurs relatives des différents modèles ainsi que les déviations de la racine de la moyenne des carrés normalisées(NRMSD) sont récapitulés dans les tableaux 9.8 à 9.11 pour les différents modèles. Cette analyse statistique permet ou non de valider les modèles proposés.

Tableau 9.8: Analyse d'erreur pour l'ajustement des données expérimentales (Optimum d'extraction).

Modèle	Conditions opératoires	R ²	RMSE	SSE	NRMSD	δr
Théorie du Film	T=56°C S/L= 1,72 g/L ω = 242 tr/min	0,96	0,034	0,008	0,01	0,62
Deux sites		0,91	0,380	6,067	0,03	1,13
Lavage/diffusion		0,89	0,415	0,012	0,05	1,56
Partionnement thermodynamique avec résistance externe		0,67	0,068	0,123	2,45	9,66
Modèle I		0,82	0,133	5,467	0,03	1,01
Modèle II		0,84	0,132	6,896	0,02	0,92
Modèle III		0,91	0,086	0,009	0,04	1,40

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Tableau 9.9: Validation des modèles de la première approche de modélisation (Optimum d'extraction).

Temps (min)	Valeurs expérimentales	Valeurs prédites			Erreur relative (%)			NRMSD		
		Théorie du film	Deux sites	Lavage/diffusion	Théorie du film	Deux sites	Lavage/diffusion	Théorie du film	Deux sites	Lavage/diffusion
35	255	258,92	252,74	250,640	1,54	0,88	0,25	0,016	0,014	0,024
100	310	313,93	313,77	323,212	1,27	1,22	4,26			
170	342	334,19	334,80	340,459	2,11	2,11	0,13			

Tableau 9.10: Validations des modèles théoriques (Optimum d'extraction).

Temps (min)	Valeurs expérimentales	Valeurs prédites			Erreur (%)			NRMSD		
		Modèle I	Modèle II	Modèle III	Modèle I	Modèle II	Modèle III	Modèle I	Modèle II	Modèle III
35	255	268,15	307,42	327,29	5,0	20	28	0,03	0,02	0,04
100	310	342,74	342,64	342,99	10,5	10	11			
170	342	343,98	343,96	344,00	5,8	0,57	0,58			

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Tableau 9.11: Les valeurs de la déviation de la racine de la moyenne des carrés des expériences du plan composite et des expériences de validation.

Variables de processus (valeurs réelles et codées)			NRMSD					
T (°C(-))	S/L (g/L (-))	ω (tr/min (-))	Théorie du film	Deux sites	Lavage/diffusion	Modèle I	Modèle II	Modèle III
52(+1)	10(-1)	300(+1)	0,051	0,034	0,100	0,045	0,053	0,057
32(-1)	10(-1)	300(+1)	0,042	0,054	0,035	0,089	0,079	0,075
52(+1)	10(-1)	100(-1)	0,083	0,032	0,084	0,100	0,065	0,058
32(-1)	10(-1)	100(-1)	0,034	0,043	0,096	0,034	0,045	0,043
32(-1)	50(+1)	300(+1)	0,024	0,104	0,036	0,065	0,057	0,062
32(-1)	50(+1)	100(-1)	0,019	0,038	0,041	0,084	0,074	0,046
52(+1)	50(+1)	300(+1)	0,054	0,027	0,021	0,102	0,043	0,054
42(0)	30(0)	200(0)	0,067	0,032	0,038	0,087	0,048	0,039
52(+1)	50(+1)	100(-1)	0,043	0,076	0,092	0,095	0,076	0,064
42(0)	2(-1,414)	200(0)	0,072	0,028	0,061	0,098	0,054	0,047
42(0)	58(+1,414)	200(0)	0,047	0,017	0,070	0,072	0,104	0,025
27,86(-1,414)	30(0)	200(0)	0,065	0,068	0,086	0,105	0,023	0,049
56,14(+1,414)	30(0)	200(0)	0,032	0,045	0,079	0,043	0,034	0,072
42(0)	30(0)	58,6(-1,414)	0,087	0,110	0,092	0,029	0,076	0,037
42(0)	30(0)	341,4(+1,414)	0,044	0,056	0,047	0,053	0,085	0,081
56(+1,414)	2(-1,414)	242(0,42)	0,010	0,025	0,085	0,030	0,020	0,040
42(0)	10(-1)	200(0)	0,09	0,111	0,102	0,079	0,098	0,087
42(0)	50(+1)	200(0)	0,087	0,105	0,098	0,095	0,094	0,102

Les expériences de validation sont mentionnées en couleur verte dans le tableau 9.11. Les courbes des figures 9.5 et 9.6 donnent un aperçu des différentes modélisations effectuées dans le cadre de cette étude.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

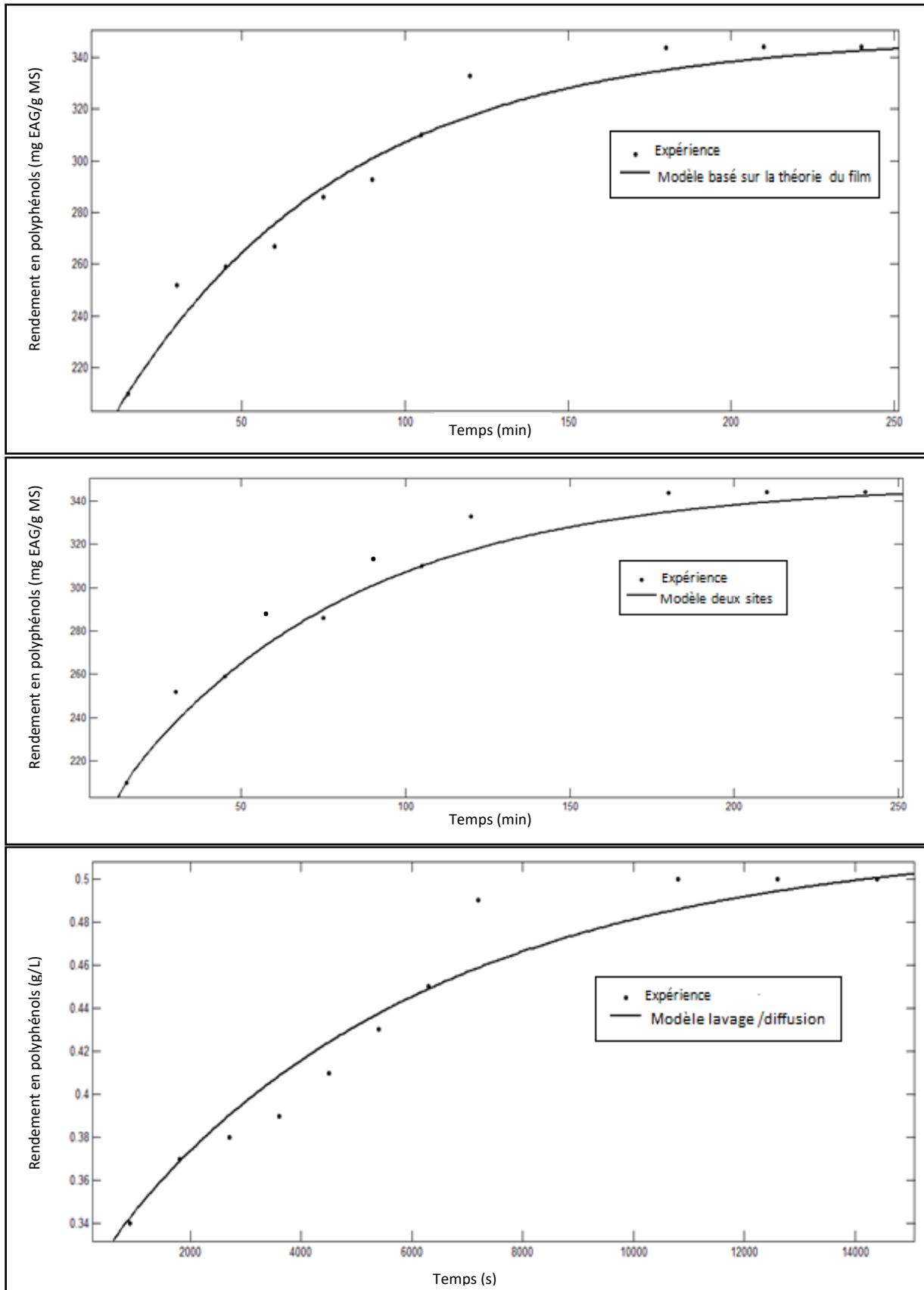


Figure 9.5: Simulation des données expérimentales par la première approche de modélisation (Optimum d'extraction).

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

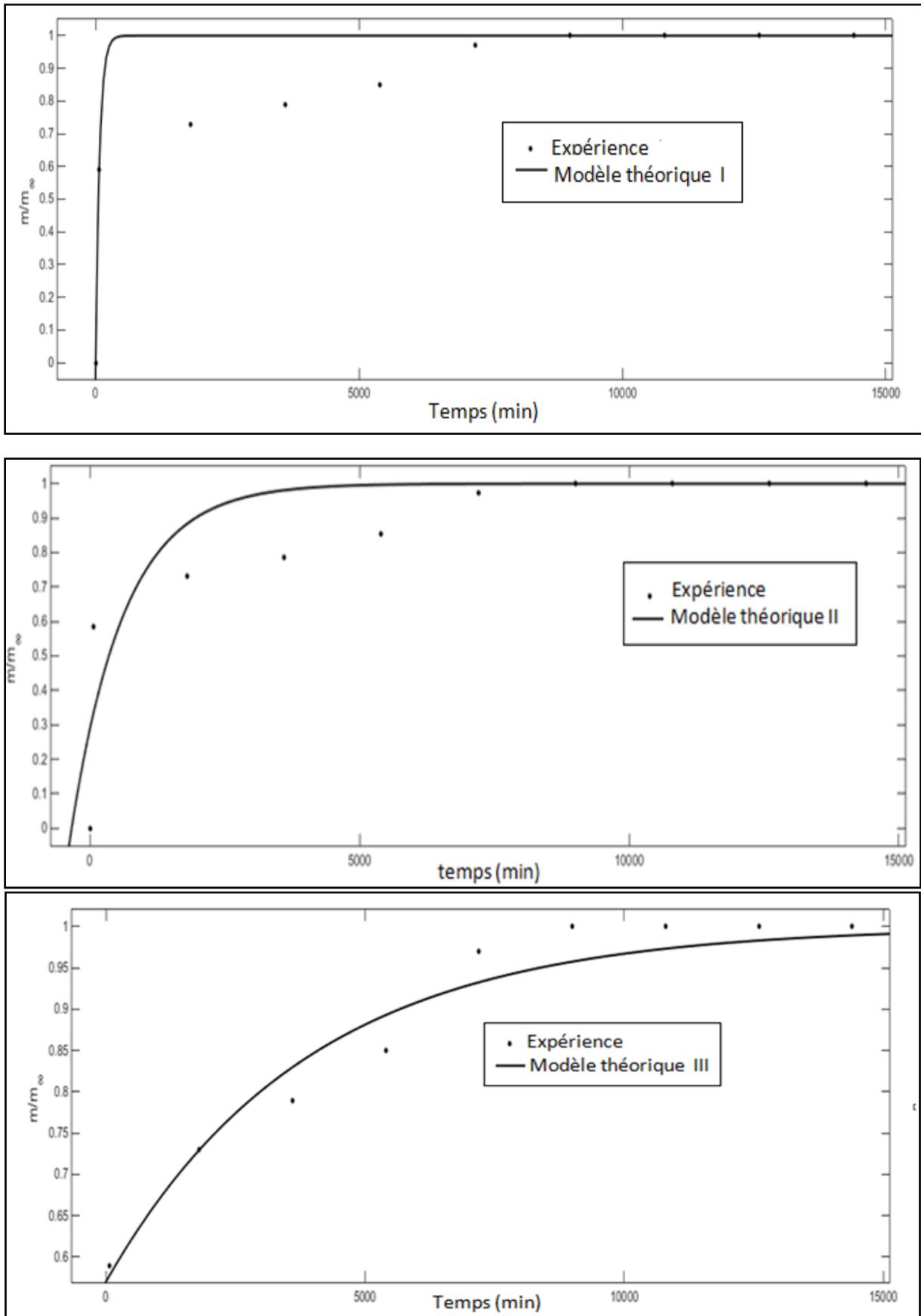


Figure 9.6: Simulation des données expérimentales par les modèles théoriques (Optimum d'extraction).

9.3.4. Modélisation par les réseaux de neurones artificiels (RNA)

a. Fondements théoriques sur les RNA

Les réseaux de neurone artificiels sont des modèles empiriques qui imitent le fonctionnement du cerveau humain dans le but de reproduire certaines caractéristiques intéressantes telles que la capacité d'apprentissage, de mémorisation et de généralisation (figure 9.7).

Un RNA est constitué généralement de trois couches : une couche d'entrée représentant les variables influençant le phénomène étudié, une ou plusieurs couches cachées et une couche de sortie comportant le ou les paramètres à modéliser. Les neurones des différentes couches fonctionnent en parallèle. Cette disposition leur permet d'échanger les informations au moyen des poids synaptiques qui les relient. On distingue deux types de réseaux [313], figure 9.8:

- les réseaux non bouclés où l'information circule des entrées vers les sorties sans retour en arrière,
- les réseaux bouclés ou récurrents caractérisés par la présence de rétropropagation dans leur structure.

Le premier type de réseau permet la modélisation des phénomènes statiques tandis que les réseaux récurrents sont utilisés pour la modélisation des séquences temporelles.

L'apprentissage, à partir d'exemples, est la propriété la plus intéressante des réseaux de neurones artificiels. C'est la phase du développement durant laquelle le comportement du réseau est modifié, en fonction des exemples qui lui sont présentés, jusqu'à l'obtention du comportement désiré. Il existe deux types d'apprentissage : l'apprentissage supervisé et l'apprentissage non supervisé. Lors de l'apprentissage supervisé, le réseau est forcé de converger vers un état final précis et ce, en lui fournissant des exemples sous la forme de couples *entrées – sorties associés*. Le RNA calcule alors l'erreur entre les sorties prédites et les sorties cibles puis, modifie les poids synaptiques entre les neurones de façon à réduire l'erreur de prédiction ou encore la fonction coût. La marge d'erreur se réduit ainsi au fil des cycles d'entraînements, avec pour but, d'être capable de généraliser son apprentissage à de nouveaux cas.

Dans le cas de l'apprentissage non supervisé, le réseau modifie son comportement en fonction des régularités statistiques de l'entrée et suggère des catégories en attribuant et en optimisant une valeur de qualité aux catégories reconnues.

L'origine de l'intérêt pratique des RNA, dans les divers domaines, est l'approximation parcimonieuse. En effet, un réseau neuronal est capable d'approximer n'importe quelle fonction avec une précision arbitraire. Pour réaliser cette tâche, le réseau nécessite moins de

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

paramètres ajustables comparativement aux approximateurs universels tels que les polynômes [314].

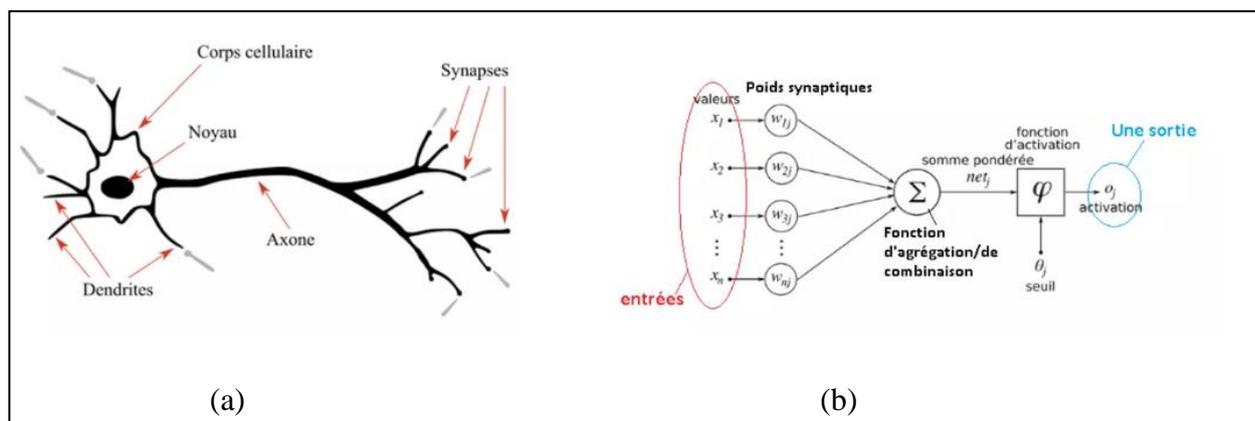


Figure 9.7: Structure de base : neurone biologique (a) et neurone artificiel (b) [315,316].

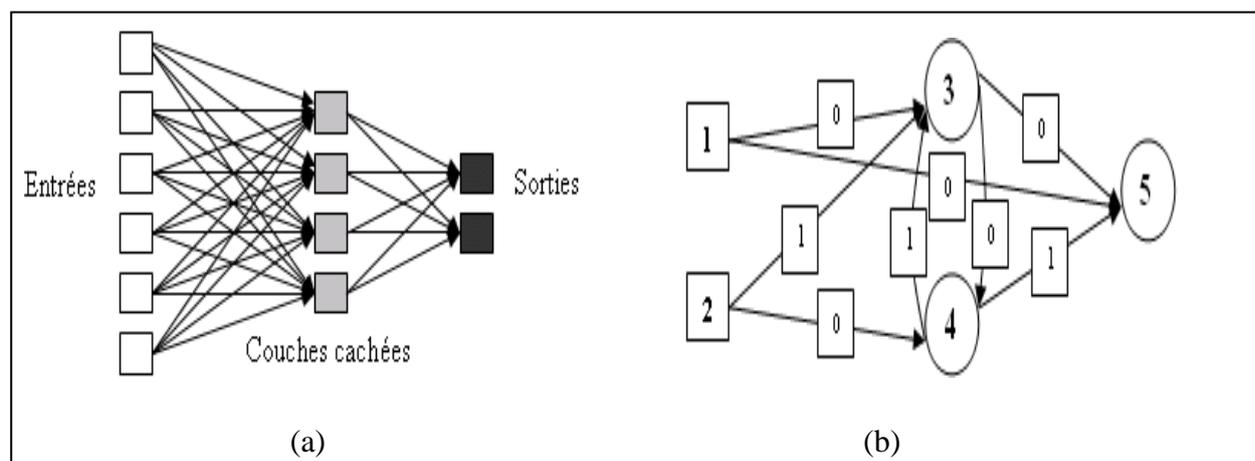


Figure 9.8: Réseau de neurones non bouclés (a) et réseau de neurones bouclés à deux entrées (b) [317].

b. Application des réseaux de neurones artificiels à la modélisation du procédé d'extraction de composés phénoliques

L'objectif de cette partie du travail est la prédiction du rendement d'extraction de composés phénoliques en utilisant les réseaux de neurones artificiels pour deux séries d'expériences.

- Première série d'expériences : Elle sera utilisée comme base de données pour comparer les rendements d'extraction prédits par les RNA avec ceux prédits par la première et la deuxième approches de modélisation développées précédemment,
- Deuxième série d'expériences : Elle sera utilisée comme base de données pour comparer les performances du modèle neuronal et du modèle de surface de réponse,

b.1. Etapes d'élaboration du modèle neuronal

La programmation est réalisée avec le logiciel Matlab R2014b et son package « Fitnet » qui propose un ensemble de fonctions dédiées à la mise en place du modèle prédictif.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

b.1.1. Construction de la base de données

- Sélection de la base de données pour chaque série d'expériences

Le tableau 9.12 donne les variables expérimentales impliquées pour chaque série d'expériences, leurs intervalles de variation ainsi que le nombre de points du jeu de données exploitées.

Tableau 9.12: Variables expérimentales, intervalles de variation et nombre de points du jeu de données.

Numéro de la série d'expériences	Variables expérimentales	Intervalle de variation	Nombre de points du jeu de données.
Première	Température (T) (°C)	28-56	Données brutes : 198 points Données traitées : 165 points par élimination des essais répétitifs au point central du domaine d'étude.
	Rapport S/L (g/L)	2-58	
	Vitesse d'agitation (ω) (tr/min)	58-341	
	Temps (t) (min)	15-240	
Deuxième	Température (T) (°C)	28-56	Données brutes : 18 points Données traitées : 15 points par élimination des essais répétitifs au point central du domaine d'étude.
	Rapport S/L (g/L)	2-58	
	Vitesse d'agitation (ω) (tr/min)	58-341	

- Homogénéisation et normalisation

L'homogénéisation du jeu de données consiste en un échantillonnage de la base de données. Un nouvel ordre est impliqué pour les données brutes.

La normalisation des données est un prétraitement recommandé avant la modélisation par les réseaux de neurones. Les grandeurs utilisées pour l'identification du modèle sont souvent de nature différente ce qui implique qu'elles peuvent varier sur des plages de valeur différentes. La normalisation permet de réduire la dispersion de ces valeurs, d'éviter la saturation des neurones par les entrées ayant des magnitudes trop grandes facilitant ainsi le processus d'apprentissage [318]

Il existe plusieurs méthodes de normalisation. Dans cette étude, nous avons opté pour la fonction prédéfinie par Matlab « mapminmax ». Elle permet de mapper les valeurs dans un intervalle entre -1 et 1. La valeur normalisée de la variable Y est donnée par la relation 9.53 [319] :

$$Y = \left[\frac{(Y_{max} - Y_{min}) * (X - X_{min})}{(X_{max} - X_{min})} \right] + Y_{min} \quad (9.53)$$

Avec :

Y : la valeur normalisée de la variable,

Y_{max} : la valeur maximale de l'intervalle de normalisation (1),

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Y_{\min} : la valeur minimale de l'intervalle de normalisation (-1),

X : la valeur à normaliser,

X_{\max} : la valeur maximale à normaliser,

X_{\min} : la valeur minimale à normaliser.

b.1.2. Analyse de corrélation

L'analyse de corrélation permet de quantifier le sens et l'intensité de la liaison qui existe entre deux variables x et y [320]. Cette technique a pour objet la sélection d'un sous-ensemble de variables d'entrées pertinentes pour la mise en œuvre du réseau neuronal. Il est à noter qu'une variable d'entrée est considérée comme pertinente lorsqu'elle est fortement corrélée à la variable de sortie et n'est pas redondante avec d'autres variables d'entrées.

Pour étudier l'indépendance des variables d'entrée, nous avons choisi la méthode de corrélation Bravais-Pearson. Cette technique permet de détecter la présence ou l'absence d'une relation linéaire entre deux grandeurs quantitatives x et y par le calcul d'un coefficient de corrélation R^2 . Ce dernier est défini par la relation (9.54).

$$R^2(x, y) = \frac{\text{Cov}(x, y)}{\sigma_x \sigma_y} \quad (9.54)$$

Par la relation 9.55, nous définissons $\text{Cov}(x, y)$.

$$\text{Cov}(x, y) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (X_i - X^-)(Y_i - Y^-) \quad (9.55)$$

Avec:

σ_x : l'écart type de la variable X ,

σ_y : l'écart type de la variable Y ,

X^- : la valeur moyenne de la variable X ,

Y^- : la valeur moyenne de la variable Y .

Le coefficient de corrélation de Bravais-Pearson varie entre -1 et +1. Il se rapproche, en valeur absolue, de « 1 » s'il existe une forte corrélation entre les deux variables X et Y . Leur indépendance se traduit par un coefficient proche de « 0 » [321].

Le résultat de l'analyse statistique de la première base de données est illustré par la figure 9.9.

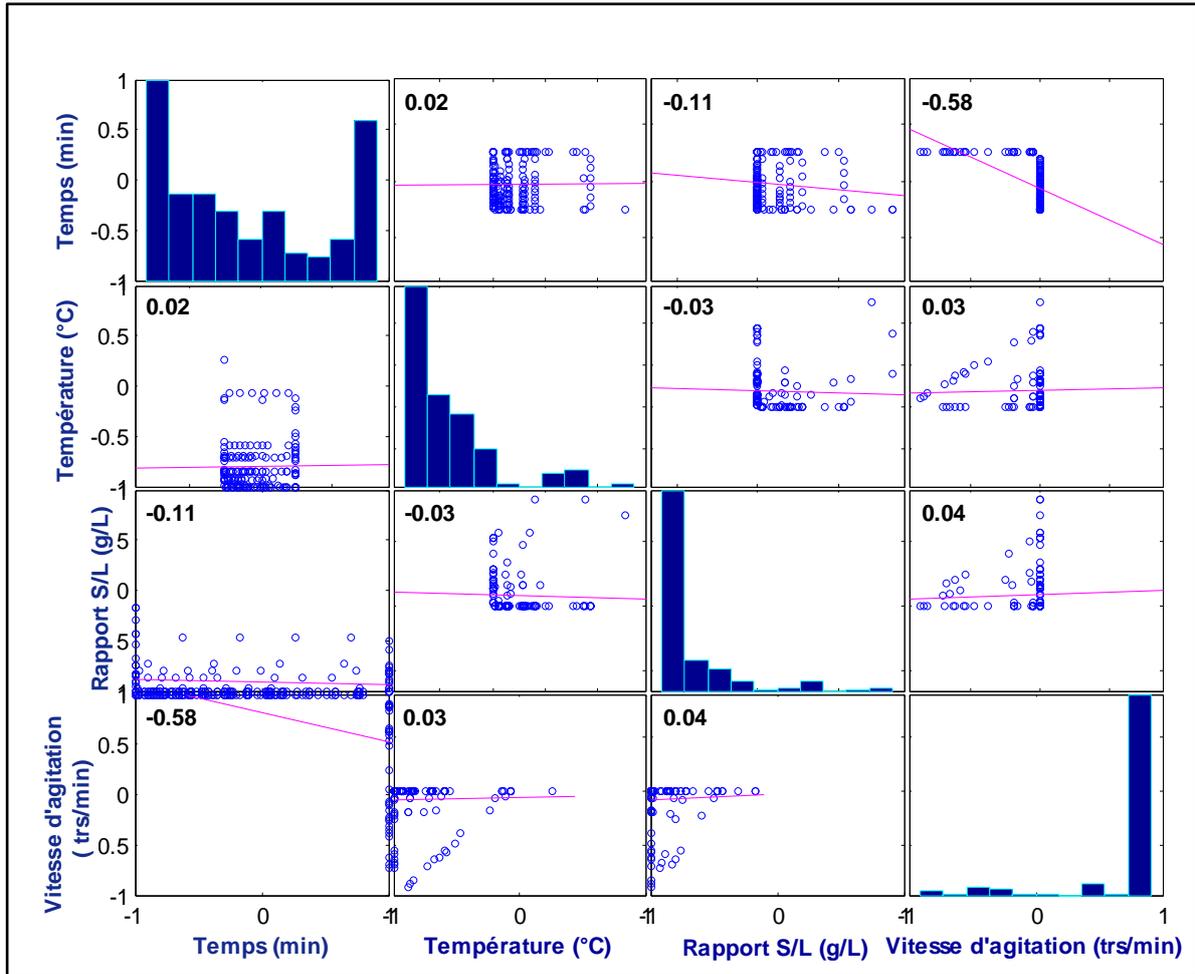


Figure 9.9: Coefficients de corrélation entre les paires de variables (Première série d'expériences).

Pour toutes les paires de variables, les coefficients de corrélation de Bravais-Pearson sont compris entre $[-0,58 \text{ et } 0,04]$. De ce fait, le degré d'association entre ces paires de variables est faible. Par conséquent, le temps, la température, le rapport S/L et la vitesse d'agitation sont des variables indépendantes.

Le résultat de l'analyse statistique de la deuxième base de données est illustré par la figure 9.10.

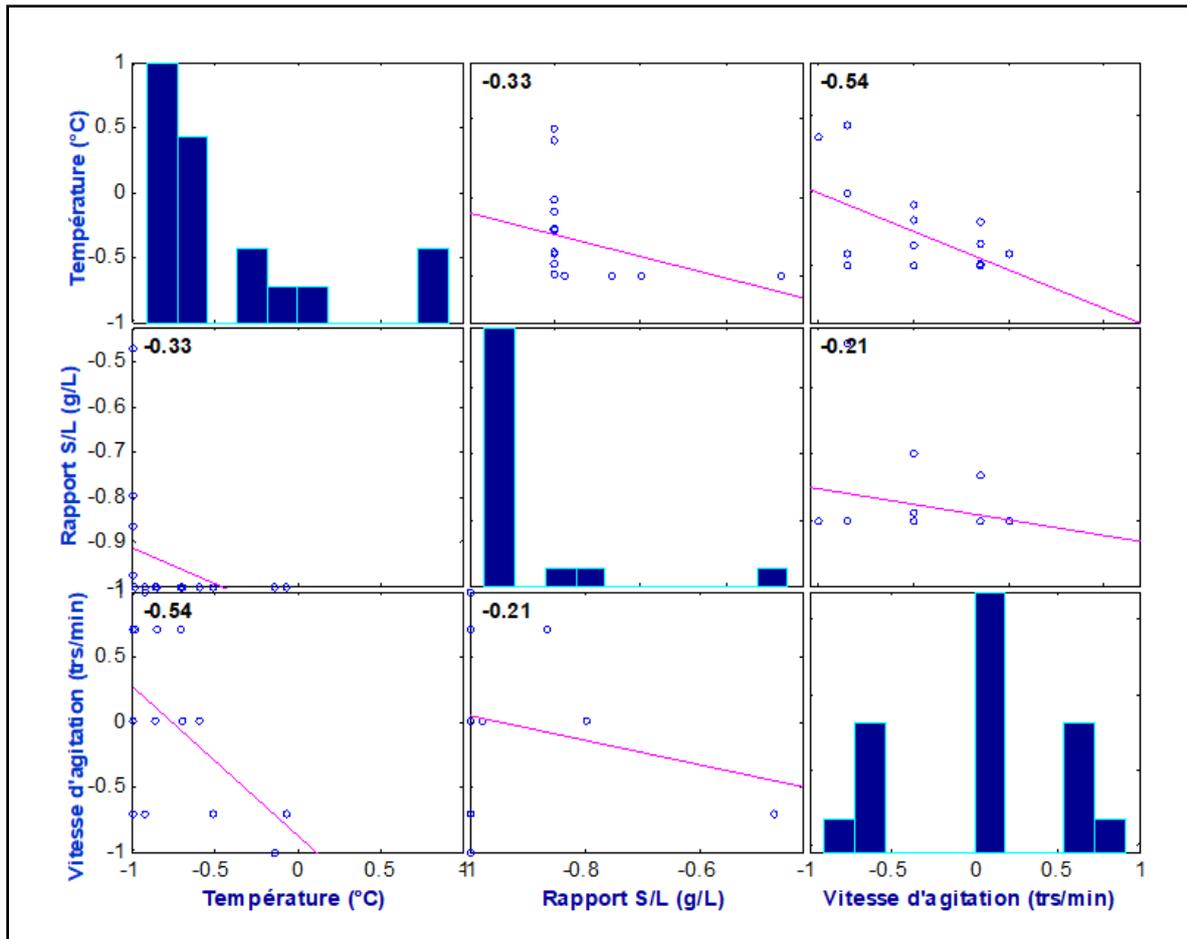


Figure 9.10: Coefficients de corrélation entre les paires de variables (Deuxième série d'expériences).

Pour toutes les paires de variables, les coefficients de corrélation de Bravais-Pearson sont compris entre (-0,54 et -0,21). De ce fait, aucune relation linéaire potentielle n'a été identifiée entre les différentes paires de variables. Par conséquent, la température, le rapport S/L et la vitesse d'agitation sont des variables indépendantes.

b.1.3. Répartition des données de base

Le jeu de données est divisé en trois sous-ensembles en utilisant la fonction « Dividerand ». Il n'y a pas de règle à suivre pour le partage de la base de données. Dans notre étude, 60% des points expérimentaux constituent le sous ensemble d'entraînement. 20% sont à considérer pour les sous ensembles de validation et de test chacun.

b.2. Elaboration du modèle RNA

Les réseaux de neurones utilisés pour la première et la deuxième série d'expériences sont de type perceptron avec une seule couche cachée. Il appartient à la famille des réseaux non bouclés à apprentissage supervisé.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

Choix des paramètres de réseau

- ✓ Algorithme d'apprentissage

L'algorithme d'apprentissage choisi est celui défini, par défaut, dans le langage de programmation Matlab à savoir l'algorithme de rétropropagation du gradient de l'erreur de Levenberg –Marquardt. Ce dernier repose sur un calcul itératif de minimisation de la fonction coût et ce, afin de garantir une sortie du réseau proche de la sortie désirée.

- ✓ Fonction d'activation

La fonction d'activation est une fonction à appliquer sur la somme des entrées pondérées pour générer la sortie du modèle neuronal. La fonction d'activation des neurones de la couche cachée, choisie dans cette étude, est la fonction tangente hyperbolique sigmoïde désignée par tansig et dont la relation entre la sortie (s) et l'entrée (v) est exprimée par la formule 9.56.

$$s = \frac{\exp(v) - \exp(-v)}{\exp(v) + \exp(-v)} \quad (9.56)$$

- ✓ Topologie du RNA

La topologie du réseau neuronal est définie par la détermination du nombre optimal de neurones de la couche cachée. A ce jour, il n'y a pas de règles pour déterminer ce nombre et il se détermine souvent empiriquement. Cependant, pour les réseaux de neurones de type feedforward, plusieurs formules simples ont été proposées pour calculer ce nombre optimal de nœuds de la couche cachée [322,323] Elles dépendent de la dimension de l'ensemble d'apprentissage et du nombre de variables d'entrée du modèle. Dans la présente étude, nous avons opté pour une démarche qui consiste à faire varier le nombre de neurones de la couche cachée entre 1 et 2 fois le nombre de variables d'entrée et de comparer ensuite la performance des réseaux générés dans la prédiction du rendement d'extraction.

c. Résultats de la modélisation par les RNA

La détermination de l'erreur quadratique moyenne et du coefficient de corrélation nous a permis d'identifier la topologie optimale du réseau pour chaque série d'expériences.

Les résultats de la modélisation neuronale, pour la première série d'expériences, sont présentés par les figures 9.11 et 9.12.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

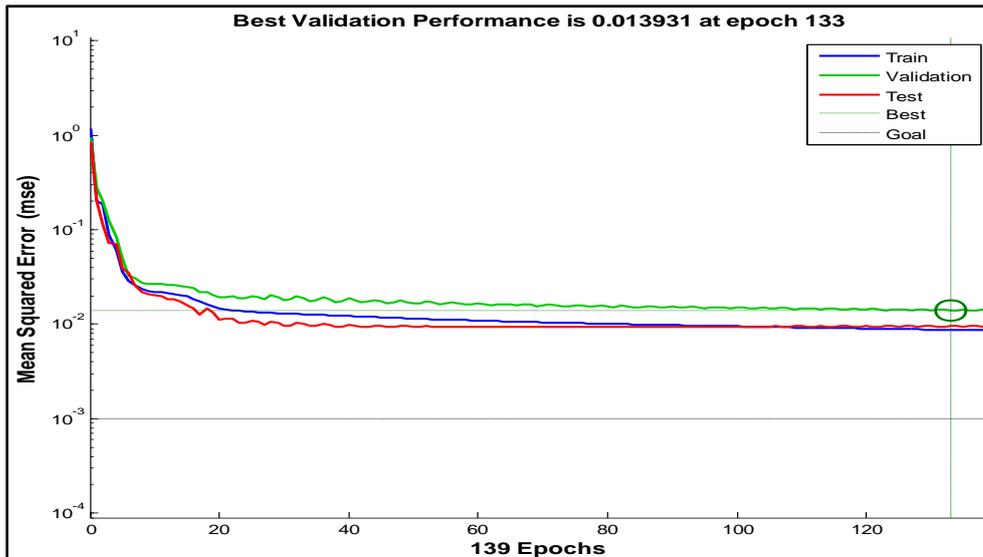


Figure 9.11: Erreur quadratique moyenne en fonction du nombre d'Epochs pour les phases d'apprentissage, de validation et de test (Première série d'expériences).

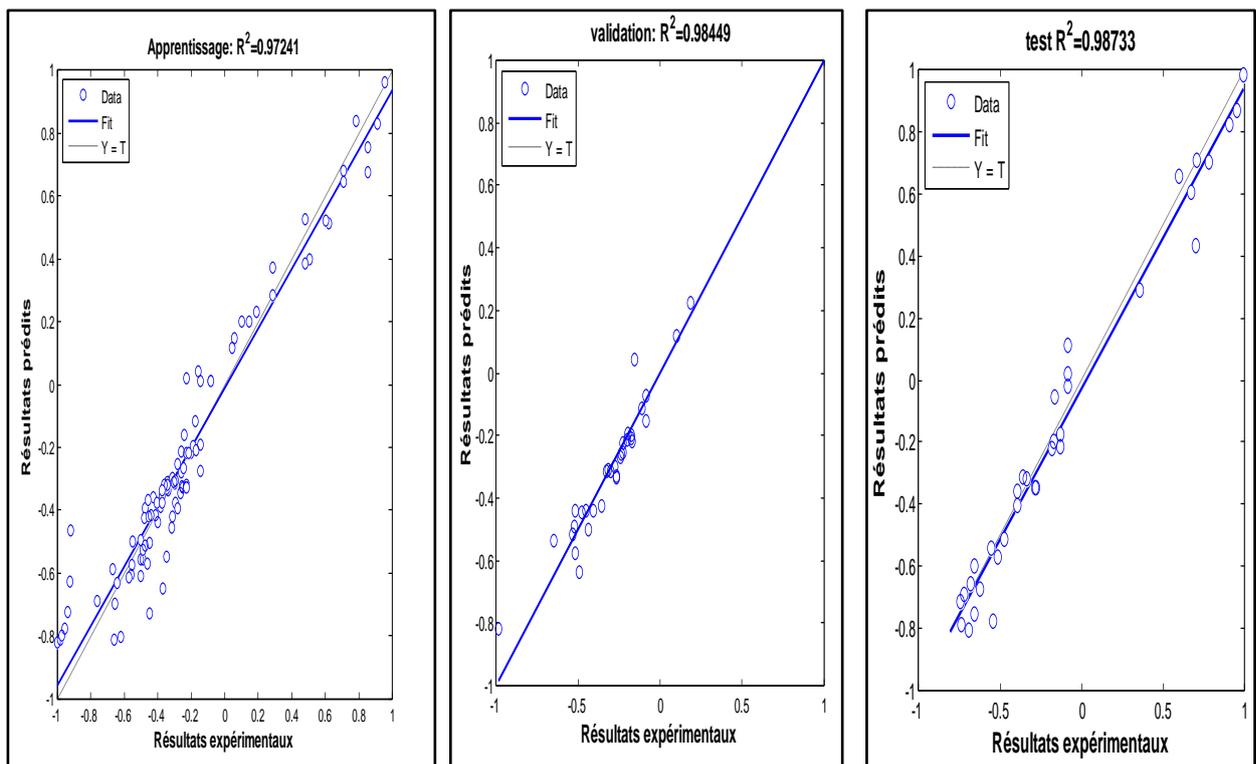


Figure 9.12: Simulation des données expérimentales par le modèle RNA pour la base d'entraînement, de validation et de test (Première série d'expériences).

Les résultats de la modélisation neuronale, pour la deuxième série d'expériences, sont présentés par les figures 9.13 à 9.15.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

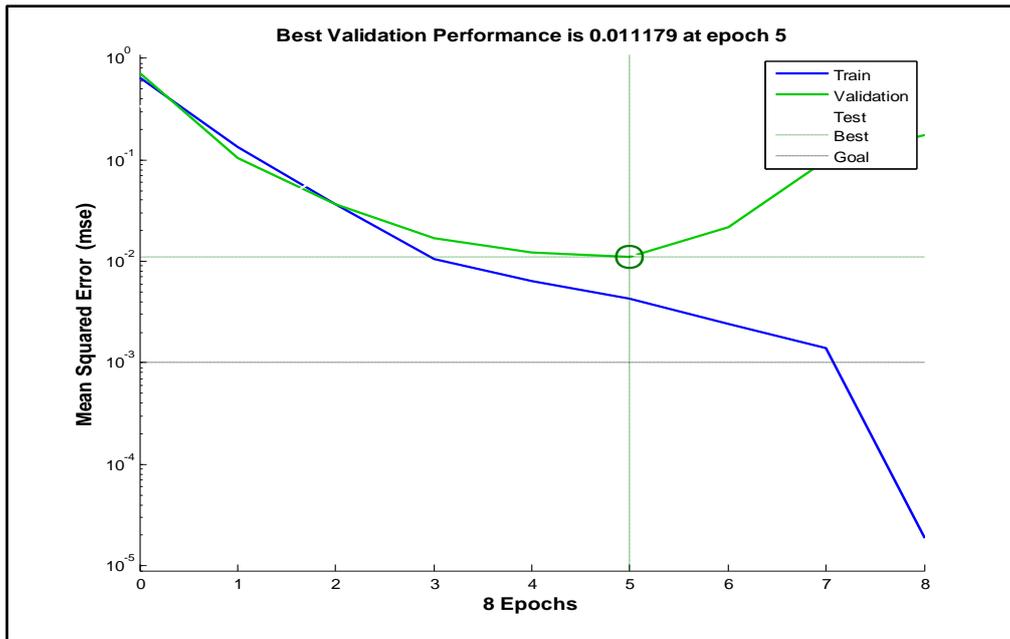


Figure 9.13: Erreur quadratique moyenne en fonction du nombre d'Epochs pour les phases d'apprentissage et de test (Deuxième série d'expériences).

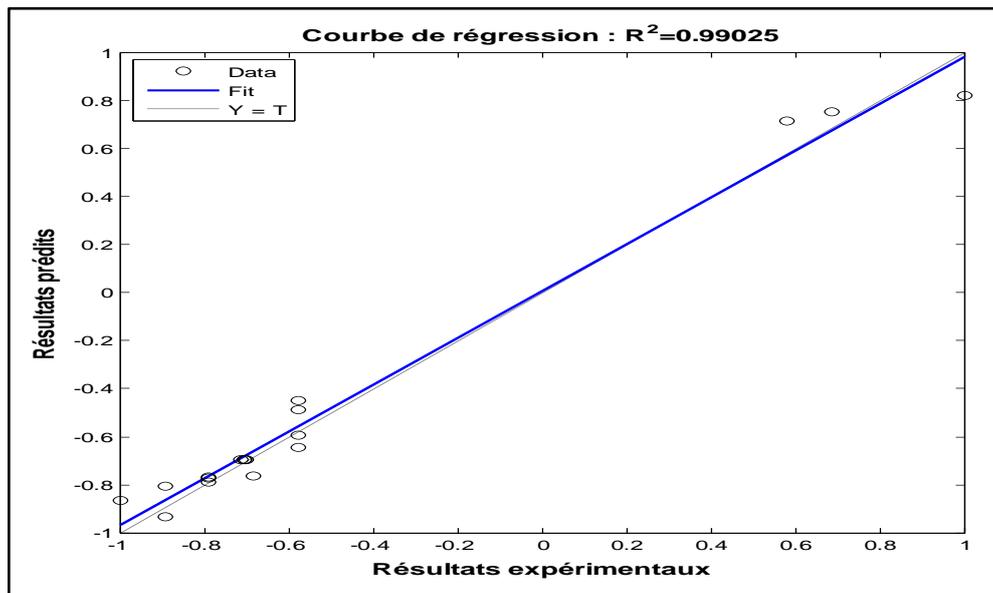


Figure 9.14 : Courbe de régression linéaire de rendement d'extraction de polyphénols pour toute la base de données (Deuxième série d'expériences).

d'entraînement et de test

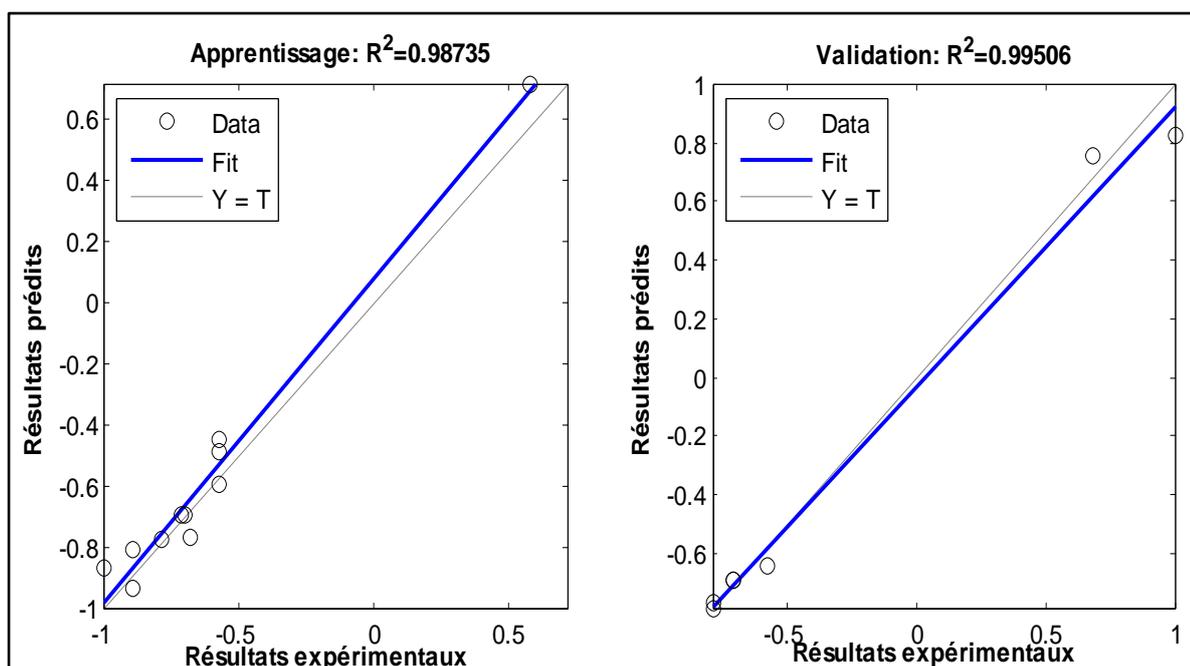


Figure 9.15: Simulation des données expérimentales par le modèle RNA pour la base d'entraînement et de test (Deuxième série d'expériences).

d. Interprétation des résultats de modélisation par les RNA

d.1. Application des RNA à la première série d'expériences et comparaison avec les modèles développés précédemment

Pour la première série d'expériences avec 4 entrées et une sortie, la topologie optimale du réseau neuronal est constituée de 5 neurones dans la couche cachée. Cette structure est obtenue après 133 cycles d'apprentissage.

D'après les critères de performance, le modèle proposé permet une représentation précise de la base d'apprentissage. Selon la valeur de $R^2(0,97)$, le modèle est capable de prédire à 97% la distribution des points du jeu d'apprentissage. Le modèle est ensuite utilisé pour prédire le comportement de la base de validation. La base de validation possède 50 configurations de simulation. Ces configurations sont inédites par rapport à celles rencontrées dans la phase d'apprentissage pour l'identification du modèle. Pourtant le modèle peut prédire 98% de la distribution des points issus de la base de validation. Ainsi le modèle est fiable pour prédire le sous-ensemble de validation. Il y en est de même pour le sous-ensemble de test avec un coefficient de détermination de 0,98. Pour les trois sous ensembles, constituant la base de données, le rendement d'extraction de composés phénoliques est prédit avec une erreur quadratique moyenne de 0,0139.

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

La comparaison des valeurs des critères de performance (R^2 et RMSE), du modèle neuronal avec celles des modèles développés précédemment, montre que le modèle neuronal prédit avec plus de précision les rendements d'extraction de composés phénoliques par rapport aux modèles fondamentaux. Cependant, ces derniers modèles fournissent certaines explications sur l'effet des conditions opératoires sur le rendement d'extraction. Les modèles théoriques permettent aussi de calculer des propriétés importantes en transfert de matière, tâche que le modèle neuronal est incapable d'accomplir. Toutefois, ce modèle de type boîte noire est très utile pour l'optimisation du processus d'extraction.

d.2. Application des RNA à la deuxième série d'expériences et comparaison avec la méthode de surface de réponse

La structure de réseau appliquée pour la première série d'expérience est utilisée pour prédire les données de la deuxième série d'expériences.

Le nombre de neurone optimal de la couche cachée est de 4 neurones d'où une topologie de (3-4-1) avec trois variables d'entrée et une variable de sortie. Le nombre d'épochs conduisant à la convergence du programme de modélisation est de 5 époques.

La performance du réseau a été vérifiée par les données de validation (RMSE= 0,002; $R^2=0,99$). Ces valeurs sont meilleures en comparaison avec les critères de performance issus de l'application de la méthode de surface de réponse (RSM) (MSE= 4, 08 ; $R^2=0,94$). Ces résultats indiquent que le modèle RNA montre une supériorité sur la RSM pour les données prédites et la capacité d'estimation. Cette précision prédictive plus élevée du RNA peut être attribuée à sa capacité générale d'approximation de la non-linéarité du système. La RSM, quant à elle, est seulement limitée à un polynôme de second ordre. En outre, il est à noter que, bien que la RSM ait l'avantage d'apprécier l'effet des facteurs expérimentaux et de leurs interactions sur la réponse par rapport au RNA, ce dernier ne nécessite pas un plan expérimental standard pour construire le modèle. Un autre avantage du modèle RNA est qu'il est flexible et permet d'ajouter de nouvelles données expérimentales pour construire un vrai modèle. En revanche, la méthodologie RNA peut nécessiter un plus grand nombre d'expériences que la RSM.

Finalement ces résultats attestent de la potentialité des deux RNA développés et de leur forte prédiction et généralisation.

9.4. Critères de choix des modèles étudiés

Des critères importants ont permis de choisir les modèles les mieux adaptés qui représentent au mieux la cinétique d'extraction aqueuse des composés phénoliques d'inule visqueuse:

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

- L'accord entre la signification physique des paramètres du modèle et les résultats de la modélisation à partir des données expérimentales,
- la facilité de simulation par le modèle et nécessité d'introduire les limites des paramètres cinétiques (connaissance des phénomènes physiques impliqués),
- La comparaison de la NRMSD des expériences de validation avec la NRMSD des expériences utilisées pour la modélisation,
- Le coefficient de corrélation,
- L'erreur quadratique moyenne.

Les deux derniers critères doivent être pris avec prudence. Une augmentation du nombre de paramètres cinétiques ou un changement de point de départ, des limites supérieures et inférieures des paramètres du modèle dans le logiciel de modélisation conduit, dans certains cas, à une amélioration de R^2 et de la RMSE.

9.5. Conclusion

Les erreurs relatives entre les résultats expérimentaux et les valeurs prédites par les modèles théoriques sont plus importantes en comparaison avec les erreurs relatives des modèles développés dans la première approche de modélisation (modèles cinétiques et application de la loi de Fick). Cependant, les erreurs moyennes restent dans la marge d'erreur acceptable dans la modélisation en génie des procédés. De plus, ces erreurs diminuent en s'approchant de l'équilibre. Dans la plage de température, de rapport solide/ liquide et de vitesse d'agitation étudiée, le modèle basé sur la théorie du film est le modèle le plus approprié pour la description de l'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse en comparaison avec les modèles proposés par la première approche de modélisation.

Le modèle théorique qui considère les transferts de masse interne et externe représente mieux les données expérimentales. Il permet de déterminer les coefficients de diffusion et de transport et de comparer la contribution des deux phénomènes dans le transfert de matière.

Les valeurs du nombre de Biot, pour le transfert de masse, sont très importantes ce qui montre que le transfert de masse interne limite le processus d'extraction.

Les paramètres des différents modèles étudiés ainsi que les propriétés de transfert de masse dépendent des conditions opératoires d'extraction. Le modèle lavage/diffusion est moins pertinent pour des rapports solide/liquide élevés.

Les modèles applicables sont valables sur une période de temps comprenant deux ou trois phases d'extraction et interprètent un peu mal le comportement au voisinage de zéro séparément. Les erreurs de modélisation sont plus importantes au tout début d'extraction. Cependant, un très fort rendement est enregistré durant cette première période, représentant

Chapitre 9 : Modélisation du phénomène de transfert de matière

63% du rendement maximum pendant les cinq premières minutes d'extraction (pour une extraction optimale). A partir de là, une compréhension rigoureuse des phénomènes impliqués dans les premières étapes (au tout début) de l'extraction sera d'une importance cruciale pour le développement d'un nouveau modèle mathématique qui vise à optimiser économiquement le processus d'extraction.

La comparaison des valeurs des critères de performance (R^2 et RMSE) du modèle neuronal 4-5-1 avec ceux des modèles de la première et de la deuxième approche de modélisation montre que le modèle neuronal prédit avec plus de précision les rendements d'extraction de composés phénoliques par rapport à ces modèles. Cependant, ces deux modèles fournissent certaines explications sur l'effet des conditions opératoires sur le rendement d'extraction et permettent de calculer des propriétés importantes en transfert de matière, tâche que le modèle neuronal est incapable d'accomplir.

Les critères de performance du modèle neuronal 3-4-1 sont meilleures en comparaison avec les critères de performance issus de l'application de la méthode des surface de réponse (RSM) ($R^2=0,94$). Ces résultats indiquent que le modèle RNA montre une supériorité sur la RSM pour les données prédites et pour la capacité d'estimation.

CHAPITRE 10:

*Management du procédé
d'extraction solide-liquide des
composés phénoliques d'inule
visqueuse*

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

10.1. Introduction

Le XX^{ème} siècle a été celui du tout « fossile » où le développement humain et industriel s'est fait sur la base de ressources fossiles et non renouvelables. Au rythme effréné actuel de consommation, ces énergies fossiles sont vivement menacées d'extinction totale. Le danger de cette exploitation abusive n'est pas seulement l'épuisement de ces énergies, mais leur consommation participerait à l'augmentation du changement climatique.

Quoi qu'il en soit, pour diminuer l'impact des énergies fossiles, de nombreux pas sont encore nécessaires et la chimie verte, ou celle des végétaux, doit encore démontrer son efficacité industrielle, économique mais aussi environnementale.

Ainsi, l'industrie de l'extraction a amorcé ces dernières années une « révolution verte », en opérant une mutation vers l'éco-extraction [324]. L'objectif est d'évoluer vers une chimie plus « durable » à l'origine de produits plus sûrs, plus efficaces et plus économiques, utilisant moins de solvants, consommant moins d'énergie et réduisant les rejets, tout en intégrant l'aspect environnemental lors de toutes les étapes du cycle de vie du produit d'intérêt.

C'est dans cette optique que nous identifions les aspects environnementaux spécifiques au processus d'extraction solide liquide des polyphénols d'inule visqueuse, que nous quantifions l'impact des aspects environnementaux identifiés et que nous proposons une remédiation des aspects environnementaux à impact significatifs.

10.2. Aspects environnementaux spécifiques au processus d'extraction solide liquide des polyphénols d'inule visqueuse

10.2.1. Analyse du processus technologique

Les principales étapes de récupération des composés phénoliques, à partir des feuilles d'inule visqueuse, ont été décrites précédemment. Le tableau 10.1 et la figure 10.1 mettent en exergue les différentes opérations d'extraction et de valorisation des composés phénoliques d'inule visqueuse ainsi que les opérations en amont et en aval du procédé d'extraction. L'analyse des différentes phases du processus d'extraction va permettre d'identifier les aspects environnementaux relatifs au mécanisme d'extraction végétale.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 10.1: Caractéristiques des différentes opérations impliquées dans l'extraction des composés phénoliques.

Opération unitaire	Caractéristiques
Récolte	Temps sec
Transport et séchage	Pièce noire, T=15°C
Broyage	P= 160 W, t= 3 min pour 10 g , m= 2,5 kg, t=15 min/ expérience
Etude granulométrique	Tamisage manuel
Détermination du taux d'humidité	476 mL de Xylène , t=6h , P= 150 W
Détermination de la masse volumique	28 mL de n-Heptane
Extraction solide-liquide	V (Eau distillée) = 1,5 L/ expérience, t= 2h, P (Distillateur) =2KW, 4 L eau distillée en 1 h, P (IKA RW 28 Basic)=400 W, P (Bain thermostaté)= 0,8 KW, t (extraction) = 2h,
Extraction liquide-liquide	Acétate d'Ethyle
Concentration	P (Evaporateur rotatif Buchi R-210)= 1360 W, P (pompe à vide) = 160 W, t=30 min/ 150 mL extrait,
Analyse spectrométrique	(Spectrophotomètre Secomam S.250 UV / VIS) (220V/50 HZ/ 32 A), t= 1min/essai, 3 essais
Stockage	P (Réfrigérateur)= 180 W, t=1 semaine en moyenne / expérience t= 2 mois en moyenne pour le plan d'expériences

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

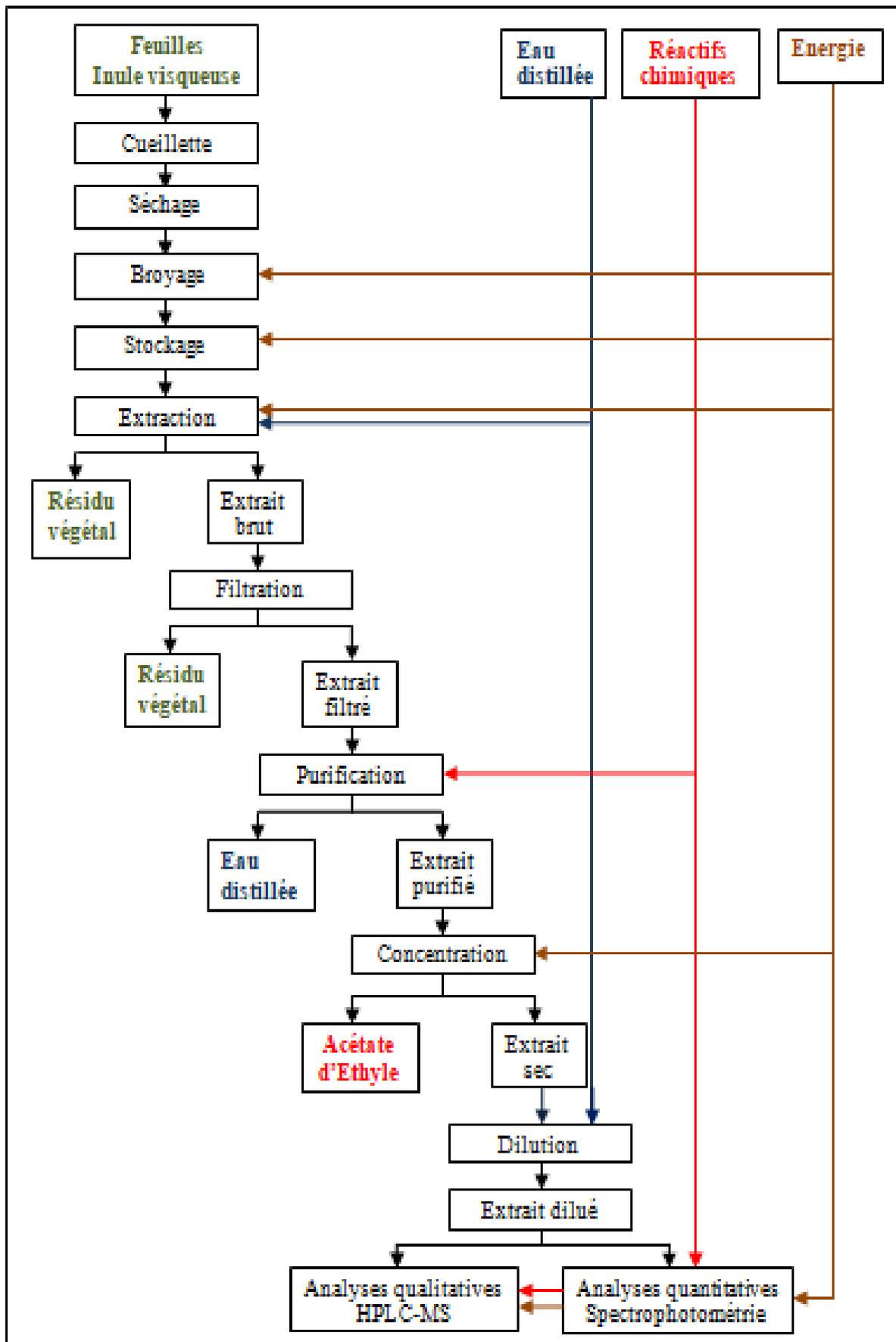


Figure 10.1: Organigramme d'extraction et d'analyse des composés phénoliques.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

10.2.2. Détermination des facteurs polluants d'une opération d'extraction solide-liquide des composés phénoliques d'inule visqueuse.

Dans cette section, nous allons déterminer les facteurs polluants du processus de récupération des composés phénoliques d'inule visqueuse. Les facteurs polluants des étapes en amont et en aval de l'opération d'extraction aqueuse sont aussi pris en compte.

a. Consommation d'eau et de réactifs chimiques

Eau distillée : 1500 mL pour l'extraction solide-liquide, 20 mL pour la dilution de l'extrait sec, 200 mL pour les analyses quantitatives et qualitatives,

Eau du robinet : Environ 500 mL par expérience,

Réactifs chimiques : 450 mL d'Actétate d'Ethyle, 476 mL de Xylène , 32 mL de n-Heptane, 10 mL de Folin ciocalteu , 25 mL de DPPH, 25 mL de Carbonate de Sodium , 25 mL de Chlorure d'Aluminium, 25 mL de Quercetine, 25 mL de BHT, 25 mL d'Acide Gallique (AG) et 25 mL d'Acide Ascorbique (A.As).

b. Quantité de résidus solides

3-87 g de matière végétale broyée (pour l'extraction proprement dite) et 10-250 g de tiges par expérience.

c. Consommation d'énergie électrique et bilan carbone

c.1. Consommation électrique par opération unitaire

Pour calculer la consommation en kWh d'un dispositif électrique employé pour une opération unitaire, nous devons prendre en considération deux données :

- la puissance du dispositif électrique exprimée en watts,
- le temps de marche du dispositif électrique exprimé en heures.

L'énergie électrique consommée (kWh) est calculée par le biais de la relation 10.1.

$$\text{Energie électrique consommée} = \frac{\text{Puissance spécifique du dispositif (watts)} \times \text{temps de marche (h)}}{1000} \quad (10.1)$$

c.2. Energie de production de solvants

L'analyse du cycle de vie du processus d'extraction solide-liquide implique un bilan environnemental multi-critères et multi-étapes sur l'ensemble du cycle de vie du procédé. Il est impératif donc de connaître l'énergie de production et de recyclage des solvants utilisés pour évaluer l'énergie totale nécessaire à l'extraction aqueuse des polyphénols d'inule visqueuse.

L'énergie de production de solvants est donnée dans la littérature [227], tableau 10.2.

L'énergie de recyclage de solvant est évaluée expérimentalement.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 10.2: Demande énergétique cumulative (DEC) de production de solvants.

Solvant	DEC production MJ* / kg solvant	DEC totale kWh / kg solvant	Volume utilisé (mL)	Masse volumique (g/cm ³)	Masse utilisée (kg)	DEC production (kWh)
Eau distillée	1,78	0,5	1720	1,00	1,720	0,86
Xylène	72,5	20,2	476	0,88	0,419	8,46
n-Heptane	61,5	17,1	32	0,68	0,022	0,37
Acétate d'Ethyle	95,6	26,6	450	0,92	0,414	11,01

* 1 MJ = 0,278 kWh

c.3. Calcul du bilan carbone

Rappelons que 1 tep = 11600 kWh = 1100 m³GN = 651 kg de Carbone

Avec : 1 kg de C = 3,66 kg de CO₂

Par suite : 1 tep = 2382,66 kg de CO₂

En Algérie, l'énergie électrique est produite, principalement, à partir du gaz naturel (GN). La part de la puissance installée de l'ensemble des centrales utilisant cette énergie primaire dépasse les 96%. Le rendement de ce type de centrale est de 35% [325]

De ce fait : 1 tep = 11600 × 0,35 = 4060 kWh

L'émission de CO₂ générée par la production d'énergie électrique sera donc de:

(2382,66 / 4060) = 0,587 kg CO₂/kWh

Enfin, il en résulte que pour produire un 1 kWh d'électricité, 0,587 kg de CO₂ est émis dans l'atmosphère.

Par suite, le taux de CO₂ émis (kg) = E consommée (kWh) × 0,587

Le tableau 10.3. récapitule les différentes phases d'extraction solide-liquide des composés phénoliques antioxydants d'inule visqueuse, la consommation d'eau distillée et de réactifs chimiques ainsi que les bilans énergétique et de carbone.

Il faut noter qu'à grande échelle, l'extraction des principes actifs, à partir des substrats végétaux, génère d'autres sources de pollution de l'air représentées par les émissions gazeuses lors du transport de la matière première ainsi que les particules en suspension issues des différentes étapes du processus technologique.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 10.3: Consommation moyenne de solvants et de réactifs, bilans énergétique et de carbone, les différents rejets d'une extraction solide liquide.

Opération unitaire	Consommation d'eau distillée	Consommation de réactifs chimiques	Consommation d'électricité (KWh)	Emission de CO ₂ (kg)	Rejets
Cueillette					Tiges/contamination
Séchage					
Broyage			0,04	0,02	
Stockage			30	17,61	
Caractérisation		476 mL de Xylène 32 mL de n-Heptane	10,26 0,37	6 0,22	476 mL de Xylène 32 mL de n-Heptane 32 g de résidu végétal
Extraction	1500 mL		3,15	1,85	
Filtration					3-80 g Résidu de végétal
Purification		450 mL d'Acétate d'éthyle	11	6,46	150 mL d'eau distillée
Concentration			2,28	1,34	450 mL d'Acétate d'éthyle
Dilution	20 mL		0,01	0,006	
Analyses	200 mL	-Folin ciocalteu -DPPH -Carbonate de Sodium -Chlorure d'Aluminium -Quercetine -BHT -Acide Gallique (A.G) -Acide Ascorbique (A.As)	HPLC-MS 0,75 UV/VIS 0,35 Eau 0,1	0,44 0,21 0,06	-Folin ciocalteu -DPPH -Carbonate de Sodium -Chlorure d'Aluminium -Quercetine -BHT -Acide Gallique (A.G) -Acide Ascorbique (A.As)
Total	1720 ml	476 mL Xylène 32 mL n-heptane 450 mL Acétate d'Ethyle	58,31	34,22	Tiges/contamination (35-112 g) Résidu végétal 476 mL de Xylène 32 mL de n-heptane 450 mL d'Acétate d'éthyle Folin ciocalteu DPPH Carbonate de Sodium Chlorure d'Aluminium Quercetine BHT Acide Gallique Acide Ascorbique

10.2.3. Identification des aspects environnementaux

L'impact sur l'environnement est représenté par tout changement de l'environnement, bénéfique ou nocif, qui résulte totalement ou partiellement des activités, des produits ou des services d'une société.

Dans le tableau 10.4, nous identifions les aspects environnementaux spécifiques au processus d'extraction solide-liquide des composés phénoliques d'inule visqueuse et à leurs impacts sur l'environnement.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 10.4: Aspects environnementaux spécifiques au processus d'extraction des composés phénoliques d'inule visqueuse et à leurs impacts sur l'environnement.

Opération	Aspect environnemental	Impact sur l'environnement
Inspection	Résidu végétal : -Valorisable : Tiges -Non valorisable : Contaminations	Air, Sol, Santé humaine
Broyage	Résidu non valorisable : poussières- Energie et bruits	Air, Sol, Santé humaine
Stockage	Energie	Air, Santé humaine
Caractérisation	Résidu végétal : feuilles-Réactifs chimiques- Energie	Air, Sol, Eau, Santé humaine
Extraction	Résidu végétal : feuilles broyées Energie	Air, Sol, Eau, Santé humaine
Filtration	Résidu végétal : feuilles broyées	Air, Sol
Purification	Eau distillée résiduelle-Extrait purifié	Sol, Eau , Santé humaine
Concentration	Acétate d'éthyle-Extrait sec-Energie Bruit	Air, Sol, Santé humaine
Dilution	Extrait dilué	Eau
Analyses	Réactifs chimiques-Energie	Air, Sol, Eau, Santé humaine
Nettoyage, hygiénisation	Matières organiques solubles Particules solides en suspension (Résidus de produits, Agents de nettoyage)	Air, Sol, Eau, Santé humaine

10.2.4. Evaluation de l'impact des aspects environnementaux identifiés

Cinq critères importants sont utilisés pour l'évaluation des aspects environnementaux [326] :

- Dispositions législatives et de réglementation (R) : notées de 1 à 10,
- Evaluation de niveau du risque (Nr) : notée de 12 à 60,
- Implications des aspects de santé (S) : notées de 1 à 10,
- Implications écologiques sur l'environnement (E) : notées de 1 à 10,
- Problèmes de la communauté et du milieu local (P) : notés de 1 à 75.

Les notes établies, pour les 5 critères d'évaluation, sont introduites dans la fiche d'évaluation de l'impact des aspects environnementaux.

Dans le cas du processus d'extraction des composés phénoliques à partir des feuilles d'inule visqueuse, les notes pour les aspects environnementaux impliqués sont présentées dans le tableau 10.5. Les données permettant le calcul de l'impact global sont fournies par certains chercheurs [326,327] (Annexe IV).

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 10.5: Evaluation de l'impact des aspects environnementaux.

Aspect environnemental	R	Nr	S	E	P	Total (R+Nr+S+E+P)
	Résidus valorisables					
-Eau distillée	10	12	2	2	5	31
-Solvants et réactifs chimiques	10	48	6	6	20	90
-Résidu de plante après extraction	10	24	2	4	10	50
-Tiges	10	12	2	2	5	31
	Résidus non valorisables					
Matières organiques solubles	10	48	6	10	20	94
Particules solides en suspension (résidus de produits, agents de nettoyage)						
Poussière	10	24	2	2	5	43
Bruit	10	12	2	2	5	31
Consommation d'énergie	10	20	2	2	5	39

Les aspects environnementaux ayant plus de 50 points sont considérés comme des aspects environnementaux significatifs [327] et sont présentés dans le tableau 10.6.

Tableau 10.6: Aspects environnementaux significatifs.

Etape technologique	Aspect environnemental	Evaluation de l'impact
Nettoyage, hygiénisation	Matières organiques solubles Particules solides en suspension (résidus de produits, agents de nettoyage)	94
Purification et analyse	Solvants et réactifs chimiques	90
Extraction	Résidus solides	50

10.3. Remédiation des aspects environnementaux à impact significatif.

Certains produits transformés (végétaux) génèrent énormément de déchets dont la valorisation est vitale pour l'équilibre économique de l'activité. La gestion des déchets est une question importante pour les différentes industries. Le traitement des déchets et effluents peut être une opportunité pour créer de la valeur ajoutée tout en diminuant les flux polluants.

10.3.1. Traitement et valorisation des résidus liquides

a. Valorisation des eaux résiduelles d'extraction et des eaux usées

L'eau existe en quantité immuable depuis des millénaires. Dans le monde, nous pouvons en compter 1400 millions de km³. C'est une quantité phénoménale, une énergie propre et quasi inépuisable! Mais ce n'est pas si simple. En effet, cette quantité d'eau colossale n'est pas à

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

100 % propre à l'utilisation. Ainsi l'eau douce accessible ne représente que 12500 milliards de m³ soit encore 2,5% dont 2% sont stockées dans les glaciers des montagnes, ce qui la rend difficilement utilisable. L'agriculture, l'industrie et l'urbanisation ont fait exploser la consommation d'eau entraînant des rejets de quantités astronomiques d'eaux usées qui finissent par rendre cette précieuse ressource impropre à l'utilisation.

C'est pour cette raison que les experts déclarent que les guerres du XXI^e siècle auront l'or bleu pour enjeu. La question de l'eau, sa valorisation et sa dépollution est aujourd'hui au centre des préoccupations des États du monde entier, qu'ils soient développés ou en voie de développement.

Dans cette partie du travail, nous proposons un schéma de valorisation des eaux résiduelles d'extraction solide-liquide d'inule visqueuse. Nous étudions ainsi le devenir des eaux usées en nous basant sur les résultats d'analyses des différents paramètres physicochimiques et de pollution et en les comparant avec les normes des rejets.

a.1. Valorisation des eaux résiduelles d'extraction

La valorisation des eaux résiduelles d'extraction est réalisée sur le lot du mois de Septembre 2018. Une extraction solide-liquide, sous les conditions optimale d'extraction (T=56°C, S/L=1,72g/L et ω = 242 tr/min) est effectuée. L'extrait brut récupéré est soumis à une distillation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif. La température de distillation est fixée à 60°C. Le temps de distillation est estimé à 2 heures pour 500 mL d'eau distillée. Après distillation sous pression réduite, l'extrait d'inule visqueuse concentré est analysé par spectrométrie d'absorption pour la détermination de la teneur en composés phénoliques. L'eau résiduelle récupérée est réutilisée dans une nouvelle extraction solide-liquide (figure 10.2). La procédure est répétée plusieurs fois et les résultats sont mentionnés dans le tableau 10.7.

Tableau 10.7: Résultats de l'étude de valorisation des eaux résiduelles d'extraction.

Numéro Extrait	Conditions d'extraction				Réponses d'extraction			
	Solvant d'extraction	T (°C)	S/L (g/L)	ω (tr/min)	Polyphénols totaux (mg EAG/ g MS)	Flavonoïdes (mg EQ/g MS)	Anthocyanes (mg EM/ g MS)	Activité antiradicalaire (% DPPH)
V0	Eau distillée	56	1,72	242	198	15	0,72	75
V1	Eau résiduelle 1				201	16	0,75	76
V2	Eau résiduelle 2				195	14	0,80	75
V3	Eau résiduelle 3				200	15	0,76	75
V4	Eau résiduelle 4				198	15	0,77	76

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

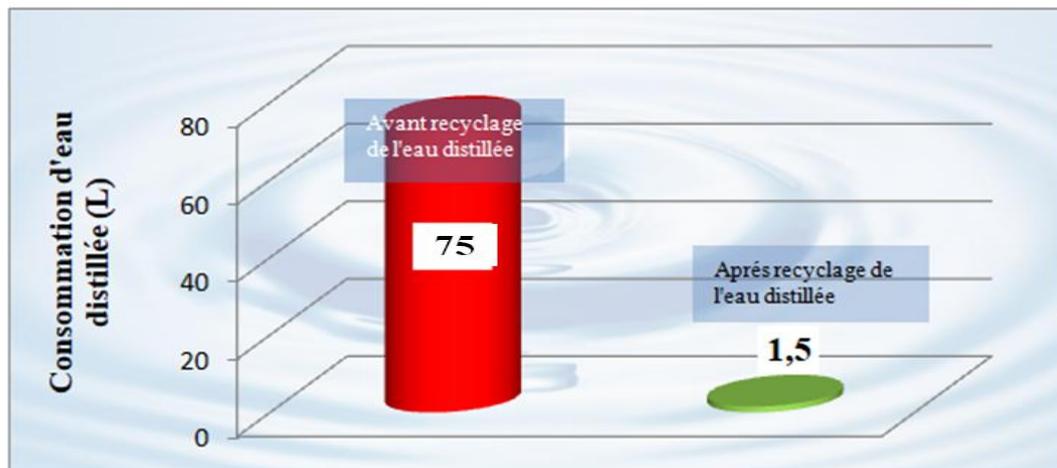


Figure 10.2: Consommation d'eau distillée avant et après recyclage de l'eau distillée.

L'utilisation d'eau distillée (solvant frais) et d'eau résiduelle d'extraction après distillation sous vide donne des teneurs en composés phénoliques pratiquement similaires. Il en est de même pour le pouvoir anti radicalaire. Un écart non significatif entre les résultats des différentes expériences est dû essentiellement aux erreurs aléatoires lors des opérations d'analyse quantitative (dilution, dosage et lecture d'absorbance par spectromètre UV/VIS). Ce résultat prévisible montre l'importance, sur les plans économique et écologique, de la valorisation et de la réutilisation des eaux résiduelles d'extraction. Le gain en solvant d'extraction (eau distillée) réalisé par cette approche est de 73 L et 500 mL pour 2,5 kg de matière végétale (soit 50 expériences avec des rapports solide/ liquide variant de 2 à 58 g/L).

a.2. Traitement et/ou valorisation des eaux usées et des eaux d'extraction en fin de cycle

L'eau d'extraction, en fin du cycle ainsi que les eaux employées pour le nettoyage de la verrerie et l'hygiénisation des appareillages et du milieu de travail, entrent dans le circuit d'épuration locale et arrivent ensuite dans l'émissaire d'où elles sont réintroduites dans la consommation quotidienne. Afin de traiter et/ou de valoriser ces eaux usées, nous avons réalisé des analyses physicochimiques, au niveau de la SEAAL, analyses qui nous ont permis de déterminer les paramètres de pollutions globale et dissoute de ces eaux résiduelles. Une comparaison des résultats obtenus avec les normes communes fixées par l'OMS et par le journal officiel de la république algérienne sur les rejets et sur les eaux d'irrigation a été également réalisée. Par la suite, nous avons calculé les indicateurs de performance relatifs (ratios) permettant d'identifier le processus d'épuration le plus adéquat.

Les résultats de cette étude sont mentionnés dans les tableaux 10.8 et 10.9.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Tableau 10.8: Paramètres physicochimiques et de pollution des eaux usées résiduelles.

Paramètres	Eau distillée résiduelle filtrée	Eau usée d'hygiénisation	Norme (OMS)	Norme Algérienne (J.O n° 26, 2005)	Norme Agriculture
Température (°C)	20	20	30	30	35
pH	7,4	8,0	6,5-8,5	6,5- 7,5	6,5-8,5
Conductivité (µS/cm)	740	1400	2700	3000	870
MES (mg/L)	10	65	20	35	30
DCO (mg/L)	7	75	90	120	90
DBO ₅ (mg/L)	5	45	30	35	30
NTK (mg/L)	5	15	6	/	/
NGL (mg/L)	9	18	/	30	/
N-NH ₄ ⁺ (mg/L)	2	10	4	/	/
NH ₄ ⁺ (mg/L)	1,5	7,7	5,0	/	/
N-NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,1	0,5	2,0	/	30,0
NO ₃ ⁻ (mg/L)	0,3	1,6	10,0	/	7,0
N-NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,04	0,20	3,00	/	/
NO ₂ ⁻ (mg/L)	0,16	0,80	10,00	/	/
P _T (mg/L)	0,5	1,5	3,0	10,0	2,0

Tableau 10.9: Indicateurs de performance et limite de variation.

Indicateur de performance	Eau usée d'hygiénisation	Limite de variation	Signification
DCO/DBO ₅	1,7	2,2 -2,4	DCO/DBO ₅ <2: facilement biodégradable.
MES/ DBO ₅	1,4	0,69 -2,93	Indique la nature de la pollution.
DCO/NTK	5.0	8,8-12,0	Influence le taux d'abattement de l'azote.
DCO/PT	50	44-50	DCO/P _T > 40 à 45 indique une bonne aptitude au traitement biologique du phosphore.
NH ₄ ⁺ /NTK	0,5	0,6-0,8	Indique le degré d'ammonification durant le transfert de l'effluent dans le réseau.

Pour les deux échantillons, les valeurs de la température et du pH enregistrées sont conformes aux normes fixées par l'OMS et aux normes algériennes. Les valeurs de conductivité pour les eaux d'extraction et d'hygiénisation sont inférieures à 2700 µS/cm (valeur limite de rejet dans le milieu récepteur (l'OMS)). Néanmoins, la comparaison des valeurs de conductivité électrique enregistrée pour les eaux usées d'hygiénisation avec les normes de qualité des eaux destinées à l'irrigation permet de les classer dans la classe 3: 750 µS/cm-2250 µS/cm, donc des eaux à haute salinité qui ne devraient pas être utilisées dans les sols où le drainage

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

est faible. De plus, ce type d'eau ne doit pas servir à irriguer les plantes sensibles aux sels même sur les sols ayant un bon drainage [328].

Les eaux d'extraction filtrées contiennent une quantité faible de matière en suspension de même pour les matières organiques et minérales dissoutes. Quant aux pollutions azotée et phosphorée, les valeurs sont inférieures aux normes de rejets.

La détermination des paramètres de pollution ainsi que le calcul des ratios caractéristiques permet de conclure que :

- les eaux d'extraction peuvent être utilisées pour l'irrigation [328] de même que dans certains procédés industriels,
- les valeurs des paramètres de pollution pour les eaux d'hygiénisation dépassent les normes de rejets d'où la nécessité de l'épuration de ces eaux,
- l'examen du rapport DCO/DBO₅ souligne bien le caractère biodégradable des eaux d'hygiénisation [329],
- Les eaux d'hygiénisation sont caractérisées par une pollution d'origine particulière [330],
- Un rapport NH₄⁺/NTK faible indique qu'une grande partie d'azote se trouve sous une forme organique qui ne peut pas être assimilée et donc traitée biologiquement. Ceci constitue une limite au traitement biologique d'azote [331],
- L'examen du rapport DCO/NTK indique la faisabilité de la réaction de nitrification [331].
- Le rapport DCO/PT est élevé (>45). Il indique une bonne aptitude au traitement biologique du phosphore sans avoir recours au traitement physico-chimique [332],
- les eaux d'hygiénisation, après épuration, peuvent être utilisées sans danger pour l'irrigation ou rejetées dans le milieu récepteur, si leur conductivité est inférieure à 750 µS/cm.

Il aurait été souhaitable aussi de procéder à une analyse des métaux toxiques et des paramètres microbiologiques pour être en mesure de faire le bon choix de la chaîne de traitement et du devenir de ces eaux usées.

b. Traitement des solvants et des mélanges de réactifs chimiques

Les fiches toxicologiques des solvants utilisés indiquent que, dans des conditions normales de stockage, ces produits sont relativement stables. Ils sont totalement ou partiellement miscibles à l'eau, facilement inflammables, volatils et souvent toxiques.

b.1.L'Acétate d'Ethyle

L'Acétate d'Ethyle est très inflammable. Il provoque une sévère irritation des yeux. Il peut provoquer des somnolences ou des vertiges. L'exposition répétée à ce produit peut provoquer

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

dessèchement ou gerçures de la peau. L'analyse du cycle de vie du solvant indique que la demande énergétique cumulative de production d'Acétate d'Ethyle est relativement importante (95,6MJ/kg de solvant), ce qui explique l'utilisation, par nos soins, de 450 mL d'Acétate d'Ethyle pour la purification de 150 mL d'extrait pour toute la série d'expériences (Plan composite).

Après chaque purification, une distillation sous vide de l'extrait purifié permet de régénérer la quantité d'Acétate d'Ethyle employée qui sera réutilisée dans une nouvelle expérience. L'économie de solvant réalisée, par ce processus de recyclage, est représentée par la figure 10.3. Il faut noter qu'il existe d'autres méthodes de purification plus économiques, plus saines et plus efficaces comme la purification en phase solide mais par manque de moyens, nous avons opté pour une extraction liquide-liquide tout en essayant de diminuer, d'une part la consommation énergétique et d'autre part la consommation de solvant par recyclage et réutilisation

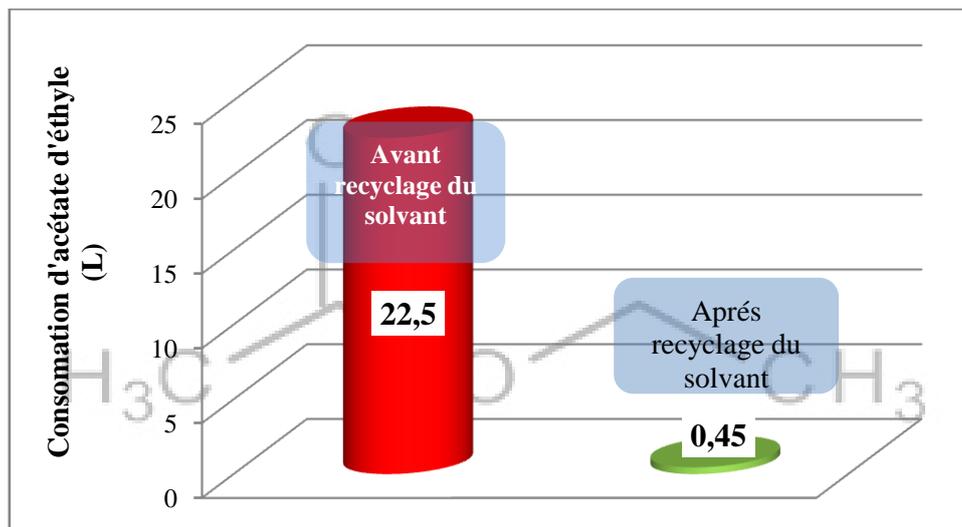


Figure 10.3: Consommation d'Acétate d'Ethyle avant et après recyclage.

b.2. Le Xylène et le n-Heptane

Une quantité faible de n-Heptane a été utilisée pour la caractérisation de la matière première (32mL). La détermination du taux d'humidité, par l'appareil de Dean Stark, nécessite l'utilisation d'un volume de 238 mL de Xylène par essai. Deux essais ont été réalisés. Après le premier essai, le solvant est recyclé par distillation sous vide et réutilisé à nouveau.

La demande énergétique cumulative de production du Xylène est de 8,46 kWh pour 419 g (soit 476 mL) tandis que l'énergie nécessaire à la distillation sous vide de 238 mL de Xylène est de 2,28 kWh. En effet, la température d'ébullition du Xylène est relativement élevée (140°C). La distillation sous vide est réalisée à une température de 80°C pendant 1h30.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

Cette solution permet de minimiser l'utilisation du solvant (238 mL au lieu de 476 mL). Elle permet également d'économiser l'énergie électrique nécessaire à l'étape de détermination du taux d'humidité de 19%. Ainsi, le bilan carbone est diminué de 1,13 kg.

b.3.Mélanges de réactifs chimiques

Les mélanges des réactifs, contenant des traces de molécules bioactives obtenues lors des tests de quantification des composés phénoliques, de détermination d'activité antiradicalaire et de détermination des caractéristiques antioxydantes, doivent aussi être traités avec beaucoup de précaution. En effet, dans ces mélanges de réactifs, il peut y avoir présence de traces de métaux tels que le sodium et le tungstène (Test de Folin-Ciocalteu) ou l'Aluminium (Chlorure d'Aluminium utilisé pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux). Le traitement de ces mélanges de réactifs est réalisé par des sociétés spécialisées. Les mélanges de réactifs peuvent être, selon leur constitution, incinérés ou soumis à des traitements chimiques.

10.3.2. Traitement et valorisation des résidus solides

L'extraction des principes actifs, à partir de substrat végétaux, génère d'immenses quantités de résidus solides. Néanmoins, une extraction végétale, respectant les exigences en matière de chimie verte, a pour défi non seulement d'utiliser des procédés et réactifs propres et sains mais aussi de développer des techniques permettant de réduire, d'éliminer, de traiter et pourquoi pas de valoriser les déchets qui en résultent. La stratégie, pour la bonne gestion des résidus solides d'extraction végétale, est donnée par l'échelle d'hierarchisation de Lansink, (figure 10.4).

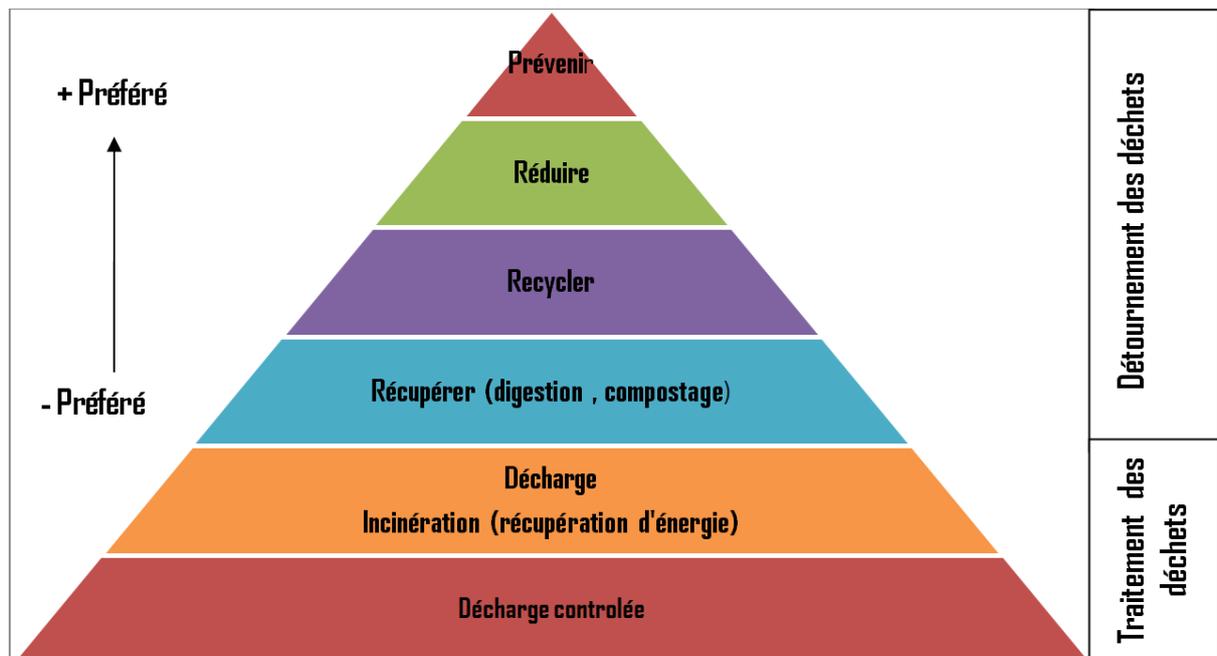


Figure 10.4: Niveaux de valeur dans la gestion des déchets (échelle de Lansink) [328].

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

« Il y a des pertes plus faciles à prévenir qu'à réparer », ce proverbe est totalement valable pour la gestion des déchets d'extraction de principes actifs. Tenter d'éviter la génération de déchets est la meilleure solution c'est pourquoi nous avons pensé dès le début à réduire la génération des résidus solides par diminution de la masse de la matière première utilisée.

Vient en deuxième position le plan visant à réduire la production de résidus par la promotion de la réutilisation interne et externe. L'option de recyclage et de valorisation dépend de la nature et des caractéristiques du résidu lui-même. La dernière éventualité est la gestion dans les sites d'enfouissement ou d'incinération. Les différentes voies de valorisation des sous produits d'extraction végétale sont illustrées par la figure 10.5.

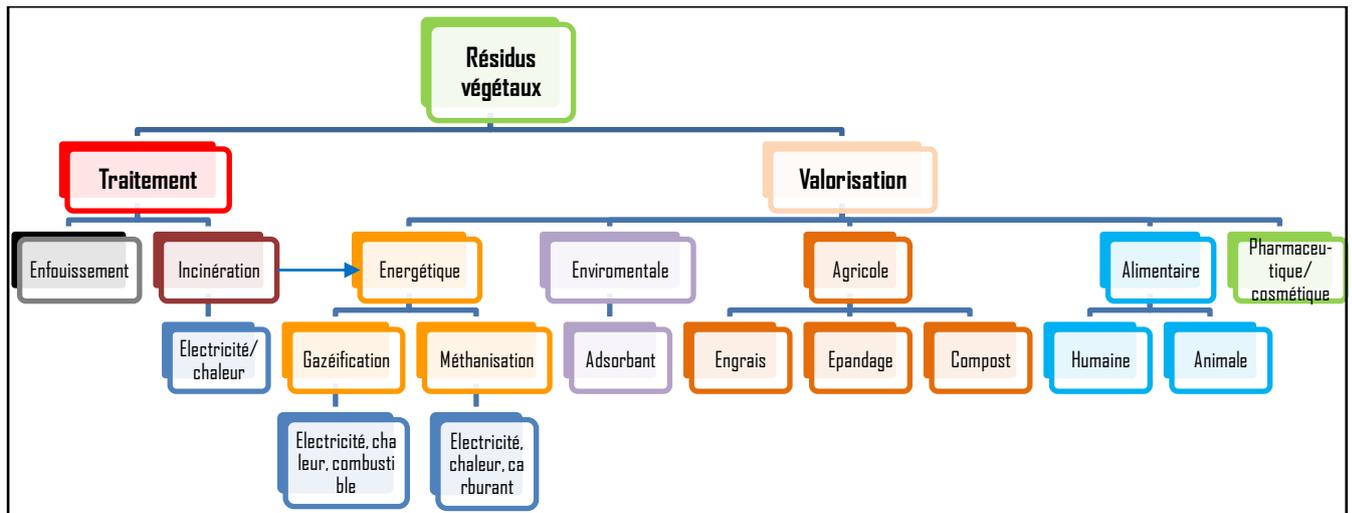


Figure 10.5: Traitement et valorisation des résidus solides d'extraction végétale.

Outre l'aspect environnemental évident, l'exploitation des sous-produits est une source de revenus non négligeable. Mais comment agir pour assurer un choix correct de la technologie de valorisation des résidus la plus appropriée ?

Les trois points clés permettant le bon choix du devenir des résidus végétaux sont [333] :

- le type de sous produit : Processus auquel il a été soumis, homogénéité, traitement préalable, qualité, caractéristiques physico-chimiques,
- l'application : Produit résultant et marché potentiel,
- le degré de viabilité : degré de maturité de la technologie.

En effet, de nombreux experts estiment dorénavant que la biomasse doit être exploitée par étapes séquentielles d'utilisations massiques. La fréquence et l'efficacité de ces étapes doivent ensuite être maximisées, l'étape finale (de récupération d'énergie) se produisant à la toute fin du cycle de vie du produit. Ce principe est appelé «utilisation en cascades» [334-336]

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

10.3.3. Diminution de la consommation énergétique et de l'empreinte écologique

a. Détermination des opérations les plus énergivores

La détermination de l'énergie électrique nécessaire aux différentes opérations d'extraction et d'analyse des composés phénoliques d'inule visqueuse nous a permis d'identifier les étapes les plus énergivores. Ainsi, la purification de l'extrait brut constitue la phase la plus consommatrice d'énergie. Avec 550 kWh d'électricité, elle représente près de 48% de l'énergie totale consommée (sachant que nous avons purifié que 10% de l'extrait récupéré).

Le tableau 10.10 classe les opérations les plus énergivores par ordre décroissant. L'énergie électrique déterminée est relative à la première série d'expériences (Plan composite avec 2,5 kg de matière végétale). Le temps de stockage (matière première et extraits) est estimé à 2 mois en moyenne pour toute la série d'expériences.

Tableau 10.10: Consommation électrique et bilan carbone pour les opérations les plus énergivores.

Opération	Consommation électrique (kWh)	% par rapport à la consommation électrique globale (kWh)	Emission de dioxyde de carbone (kg)
Purification	550,00	47,68	317,90
Stockage	259,00	22,45	149,70
Extraction solide liquide	157,50	13,65	91,04
Concentration de l'extrait	114,00	9,88	65,89

b. Gain en énergie et réduction des émissions de CO₂

b.1. Recyclage et réutilisation de l'acétate d'éthyle

Afin de diminuer l'énergie électrique indispensable à l'opération de purification et de concentration d'extrait purifié, nous avons pensé à recycler l'acétate d'éthyle en le récupérant après distillation sous vide et en le réutilisant pour la purification d'un nouveau extrait végétal. Nous illustrons le gain obtenu par la solution que nous proposons en représentant en figure 10.6, la consommation électrique nécessaire aux opérations de purification et de distillation sous pression réduite et le bilan de carbone engendré avant et après recyclage de l'acétate d'éthyle pour toutes les expériences d'optimisation (Plan composite).

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

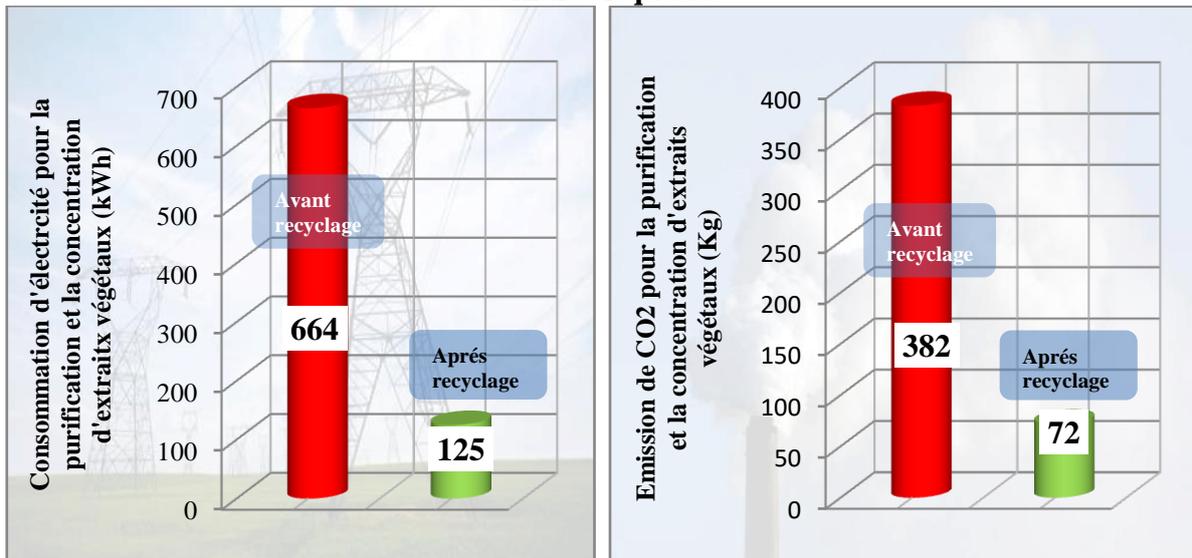


Figure 10.6: Consommation électrique et bilan carbone pour les processus de purification et de distillation sous vide avant et après recyclage de l'Acétate d'Ethyle.

Par le recyclage et la réutilisation de l'acétate d'éthyle, nous réalisons un gain économique de 539 kWh pour toute les expériences d'optimisation soit encore 81 % de l'énergie électrique utilisée pour la purification et la concentration des extraits végétaux ou encore 46,7% de l'énergie électrique totale du processus d'extraction solide- liquide des composés phénoliques d'inule visqueuse. De plus, cette solution entre dans le contexte du développement durable car elle permet de réduire l'émission de 310 kg de CO₂ pour 2,5 kg de matière végétale utilisée. Néanmoins, la quantité de 450 mL d'Acétate d'Ethyle, par expérience, ne permet pas de purifier le volume total d'extrait récupéré (seulement 10% du volume sera purifié). Cette solution est utilisée pour les travaux de recherche dans le cas où l'on cherche seulement à analyser quantitativement et qualitativement l'extrait récupéré.

b.2. Valorisation des eaux résiduelles d'extraction

Le solvant d'extraction (eau distillée) est purifié par une distillation sous pression réduite puis recyclé et réutilisé dans une nouvelle extraction. Cette opération en boucle permet de réduire la consommation globale d'eau distillée et de réaliser un gain important en énergie nécessaire pour la production d'eau distillée (36,75 kWh pour 2,5 kg de matière végétale utilisée) Cependant, l'opération de recyclage d'eau résiduelle est consommatrice d'énergie électrique (9 kWh par expérience soit 450 kWh pour 2,5 kg de matière végétale utilisée). Après tout, même sans valorisation de l'eau d'extraction, cette étape est nécessaire pour la concentration de l'extrait de composés phénoliques en totalité. De plus, la concentration d'extrait d'inule visqueuse, en phase aqueuse avant purification, permet de diminuer le volume d'Acétate d'Ethyle requis. Le volume d'Acétate d'Ethyle, indispensable à la purification du volume total d'extrait sera de 60 mL (3x20ml) au lieu de 4500 mL par expérience. L'énergie consommée sera de 16,7 kWh au lieu de 1250 kWh pour 2,5 kg d'inule visqueuse (si l'on

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

prend en compte la distillation sous vide et la réutilisation de l'Acétate d'Ethyle dans une nouvelle purification). Cette solution est recommandée pour une utilisation industrielle.

Nous donnons, en figure 10.7, le nouveau schéma d'extraction solide liquide des polyphénols d'inule visqueuse en représentant la nouvelle consommation en solvants, en énergie ainsi que l'empreinte écologique.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

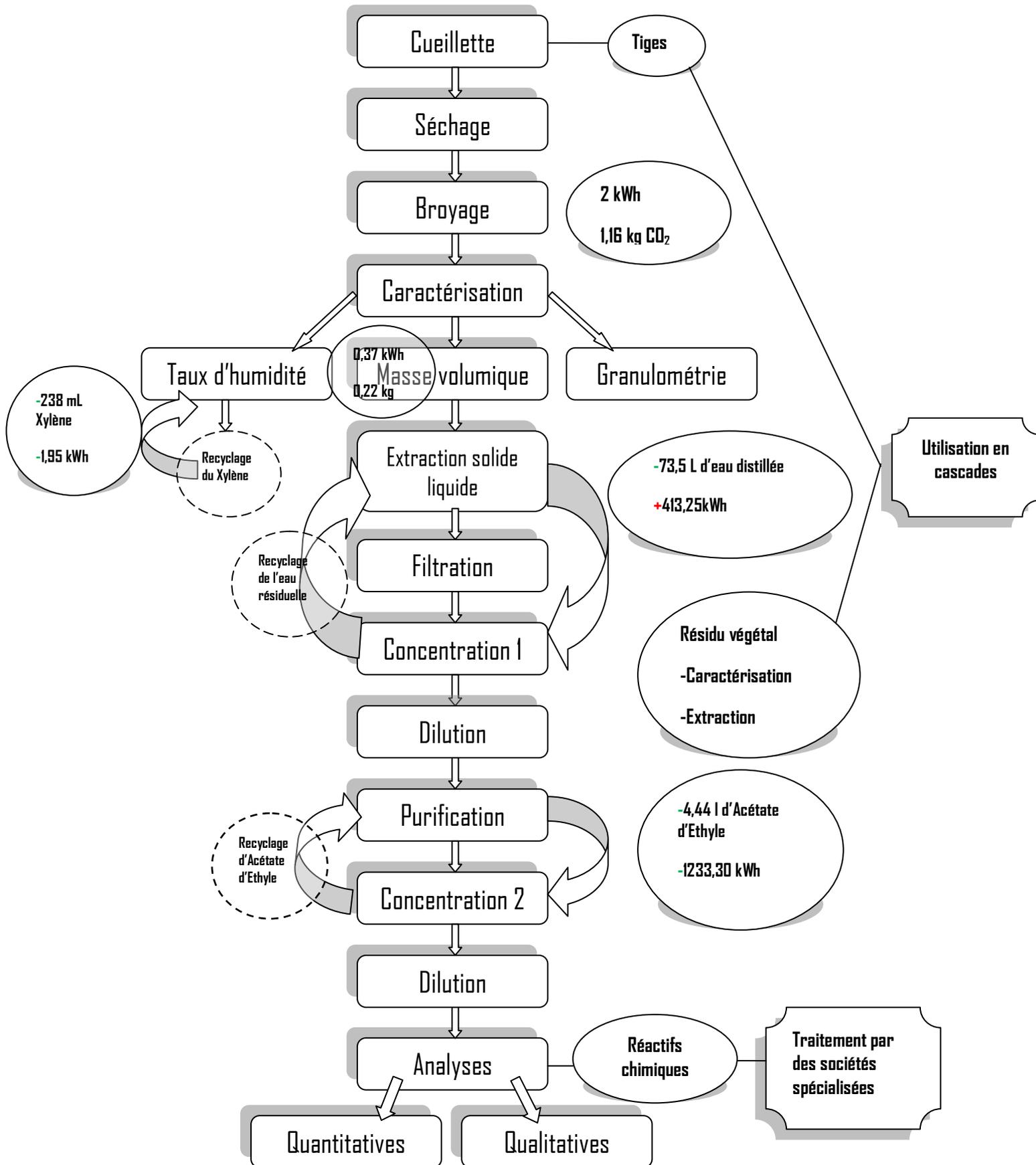


Figure 10.7: Schéma d'extraction de composés phénoliques et valorisation des résidus.

Chapitre 10 : Management du procédé d'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse

10.4. Conclusion

L'identification et l'évaluation des aspects environnementaux relatifs à l'extraction des composés phénoliques d'inule visqueuse aide à déterminer les étapes du processus aux impacts environnementaux significatifs. Les étapes les plus énergivores ont été également identifiées. Des solutions ont été proposées pour remédier aux aspects environnementaux à grand impact. L'adoption des recommandations que nous avons développées, dans la présente étude, permet une meilleure gestion des résidus solides et liquides issus de l'opération de récupération et d'analyse des composés phénoliques tout en réalisant des économies importantes en solvants et en énergie ce qui induit forcément une réduction de l'empreinte écologique.

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Pour pallier un peu le manque d'informations sur l'extraction des composés phénoliques d'inule visqueuse, notre étude s'est focalisée sur quatre axes :

- Optimisation des paramètres technologiques clés dans l'extraction des polyphénols d'inule visqueuse tout en respectant certains principes de l'écoextraction,
- Purification et analyses quantitatives et qualitatives des extraits récupérés,
- Modélisation du phénomène de transfert de matière impliqué,
- Management du procédé d'extraction solide- liquide mis en jeu.

De l'analyse et de l'exploitation de l'ensemble des résultats obtenus, dans tout le domaine d'étude, il ressort que :

- l'effet simple de la température, du rapport solide/ liquide et de l'interaction entre ces deux facteurs sont les paramètres les plus influents sur toutes les réponses étudiées,
- le couple température-temps d'extraction est un paramètre très important dans l'optimisation économique du procédé d'extraction.

Dans le domaine d'étude :

- les couples (température élevée, durée d'extraction longue) produisent les meilleures réponses en flavonoïdes et en pouvoir antiradicalaire,
- les couples (température faible, durée d'extraction longue) aboutissent à des valeurs importantes en anthocyanes.

En ce qui concerne les polyphénols totaux, nous pouvons avancer les résultats suivants:

- pour des rapports solide/liquide moyens à élevés, il est recommandé de diminuer la température tout en augmentant la période d'extraction,
- pour des rapports solide/liquide faibles, il est recommandé d'augmenter la température tout en diminuant le temps d'extraction,
- l'extraction par solvant initialement chargé en polyphénols donne un meilleur rendement en comparaison avec le rendement d'extraction obtenu par eau distillée suivi d'eaux d'extraction (eaux distillées résiduelles recyclées). Le rendement y est plus élevé par rapport à la quantité de polyphénols récupérée par solvant frais (eau distillée),
- le rendement en polyphénols et la teneur en flavonoïdes augmentent pour un pH initial basique. Cependant, un milieu initialement acide améliore la quantité d'anthocyanes et le pouvoir antiradicalaire. Un simple changement du pH de la solution d'extraction améliore significativement la quantité de polyphénols extraite qui

passé de 332,7 mg EAG/g MS à 687,7 mg EAG/ g MS, l'activité antiradicalaire, quant à elle, augmente de 16%.

- l'application et la simulation des différents modèles proposés montrent que :
 - les deux modèles (modèles basés sur la théorie du film et des deux sites) ainsi que le modèle théorique prenant en compte le transfert dans et autour de la phase solide représentent bien les cinétiques d'extraction,
 - les paramètres des différents modèles étudiés ainsi que les coefficients de diffusion et de transfert dépendent des conditions de fonctionnement. Le modèle de lavage /diffusion est moins pertinent pour des rapports solide/liquide élevés,
 - les valeurs du nombre de Biot pour le transfert de masse sont très élevées ce qui prouve que la résistance au transfert de masse est localisée dans la phase solide,
 - le phénomène de transfert de masse, lors de l'extraction solide-liquide des polyphénols d'inule visqueuse, est endothermique.
- les quatre aspects environnementaux ayant un impact significatif sur l'environnement sont:
 - les résidus végétaux provenant des étapes d'inspection, d'extraction et de filtration,
 - les mélanges de réactifs usés obtenus après les tests de caractérisation et d'analyses,
 - les eaux résiduelles d'extraction contenant des matières organiques solubles et des particules solides en suspension,
 - les eaux usées d'hygiénisation des équipements et des surfaces de travail.
- une détermination des opérations les plus énergivores est réalisée : Purification des extraits, stockage de matière première et extraits, extraction solide-liquide et concentration des extraits par ordre décroissant.

Nous avons aussi proposé et étudié certaines approches pour remédier à ces aspects environnementaux par :

- la valorisation des eaux résiduelles d'extraction dans une nouvelle extraction et utilisation de ces eaux en fin du cycle dans l'irrigation,
- le traitement biologique des eaux usées d'hygiénisation,
- le recyclage et la réutilisation du solvant de purification et des réactifs chimiques de caractérisation,
- le traitement des mélanges de réactifs chimiques qui doit être réalisé par des sociétés spécialisées,
- la valorisation en cascade des résidus solides.

L'adoption des recommandations, que nous avons développées dans la présente étude, permet de réaliser des économies importantes en solvants (73,5 L d'eau distillée, 4,4 L d'Acétate d'Ethyle et 238 mL de Xylène) et en énergie (822 kWh soit 62% de l'énergie totale consommée) en réduisant ainsi l'empreinte écologique (475 kg de CO₂ émis) et cela pour 2,5 kg de matière végétale seulement.

A l'issue de ces travaux menés tout au long de cette étude, un certain nombre de pistes de recherche sont à notre portée et méritent d'être expérimentées. En voici quelques-unes :

- valorisation des extraits par des tests sur les activités biologiques,
- analyse qualitative approfondie des extraits obtenus, analyse fondamentale pour la sélection du milieu d'extraction approprié pour un composé phénolique d'intérêt,
- fractionnement de ces extraits, identification des molécules responsables de la meilleure activité antioxydante et isolement des composés d'intérêt,
- attention particulière pour les premières minutes d'extraction (63% du rendement maximum est enregistré durant les cinq premières minutes pour l'optimum d'extraction) et ce, afin de comprendre le phénomène mis en jeu et de développer de nouveaux modèles mathématiques qui induiraient une optimisation économique du processus d'extraction,
- développement de nouveaux modèles mathématiques prenant en considération la microstructure des particules solides, l'hétérogénéité de la matière première et la possibilité de réactions chimiques et ce, pour expliquer l'allure des cinétiques d'extraction particulièrement en milieux acide et basique.

Enfin, cette recherche valide scientifiquement l'usage traditionnel de cette plante et révèle l'intérêt que nous devons lui accorder dans le cadre d'une exploitation en biotechnologie.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques:

- [1] BABA AISSA, F. (1999) Encyclopédie des plantes utiles (Flore d'Algérie et du Maghreb). Substances végétales d'Afrique, d'Orient et d'Occident, Alger : Ed. Edas, 1999. 368p.
- [2] DOBIGNARD Alain, CHATELAIN, Cyrille. Index synonymique de la flore d'Afrique du Nord , Genève : ÉDITIONS DES CONSERVATOIRE ET JARDIN BOTANIQUES, 2010. 455p.
- [3] ILBERT Hélène, HOXHA Valter, SAHI, Lamia., COURIVAUD, Alix., CHAILAN, Claude. Le marché des plantes aromatiques et médicinales : analyse des tendances du marché mondial et des stratégies économiques en Albanie et en Algérie. Montpellier : CIHEAM / FranceAgriMer, 2016. 222 p.
- [4] EL OUARIACHI, E, BOUYANZER, Abdelhamid. Antioxidant activity of solvent extracts of *Inula viscosa* from Morocco. *Arabian Journal of Chemical and Environmental Research*. 2014, vol.1, n° 1 , pp. 33-40.
- [5] LOUNIS, Hakima , BERGHEIM, Ina, BOUHAIMI , Abdellah, GUIGONIS, Jean-Marie, BELHAMEL , Kamel. Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Inula viscosa* and *Senecio anteuphorbium*. *Oriental Pharmacy and Experimental Medicine*. 2018, vol.18, pp. 225-236.
- [6] ANASTAS, Paul, EGHBALI, Nicolas. *Green Chemistry: Principles and Practice*. *Chemical Society Reviews*. 2010, vol.39, pp.301-312
- [è] DEFRAIGNE , Jean-Olivier, PINCEMAIL, Joël. Stress oxydant et antioxydants: mythes et réalité. *Revue Médicale de Liège*. 2008, vol.62, pp.10-19.
- [8] GERSCHMAN, Rebeca, GILBERT, Daniel-L., NYE, Sylvanus-W., DWYER, Peter, FENN, Wallace-O. Oxygen Poisoning and X-irradiation: A Mechanism in Common. *Science*. 1954, vol.119, n°3097, pp. 623-626.
- [9] HARMAN, Denham. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry, *Journal of Gerontology*. 1956, vol. 11, n° 3, pp. 298-300.
- [10] MCCORD, Joe, M., FRIDOVICH. , Irwen. The utility of superoxide dismutase in studying free radical reactions. I. Radicals generated by the interaction of sulfite, dimethyl sulfoxide, and oxygen, *Journal of Biological. Chemistry*. 1969, vol.244, pp.6056-6063.
- [11] GARDES-ALBERT, Monique., BONNEFONT-ROUSSELOT, Dominique., ABEDINZADEH , Zohreh., JORE. Daniel. Espèces réactives de l'oxygène : Comment l'oxygène peut-il devenir toxique ? *L'actualité chimique* .2003, n° 270, pp.91-96.
- [12] RODRIGO , Ramón , GIL-BECERRA, David. Implications of Polyphenols on Endogenous Antioxidant Defense Systems in Human Diseases. In: R., Watson, V., Preedy , Z., Sherma. (Eds). *Polyphenols in Human Health and Disease* [en ligne]. Cambridge Massachusetts (USA):Academic Press, 2014, pp. 201-217. [Résumé consulté le 15 mai 2015], vol.1. Disponible à l'adresse: <https://www.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2>

- [13] SIES, Helmut., Oxidative stress: from basic research to clinical application. American Journal of Medicine. 1991, vol.91, n° 3C, pp. 31S-38S.
- [14] HAJ MOUHAMED, D., EZZAHER, A., NEFFATI, F., DOUKI, W., GAHA., L., NAJJAR, M.F. Étude d'un marqueur du stress oxydant chez les fumeurs : le malondialdéhyde. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée. 2012. vol. 27, n°4, pp. 153-158.
- [15] PELLI, Kristiina, LYLÿ, Marika . Les antioxydants dans l'alimentation, Paris, Institut national de la recherche agronomique.2003, vol.1, 28 p.
- [16] SERGENT, O., GRIFFON, B., CILLARD., P., CILLARD Josiane. Alcool et stress oxydatif, Pathologie Biologie. 2000, vol.49, n° 9, pp. 689-695
- [17] SAUVANET, Pierre., Stress oxydatif : effets métaboliques et vasculaires dans le diabète. Médecine des Maladies Métaboliques.200, vol.1, n° 3, pp.115-116
- [18] DESMIERS, Thomas. Les antioxydants de nos jours : définition et applications, Thèse de Doctorat d'Etat : Pharmacie. France : Université de Limoges, 2016. 87p.
- [19] MACHEIX, Jean-Jacques., FLEURIET, Annie., JAY-ALLEMAND, Christian. Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique[en ligne]. Suisse, Lausanne : Presses Polytechniques et universitaires romandes (PPUR), 2005, 192 p.
- [20] ROLLAND, Yohan. Antioxydants naturels végétaux. Oil seeds and fats. Crops and Lipids (OCL). 2004, vol.11, n°6, pp. 419-424.
- [21] PERRIN., J.L. Les composés mineurs et les antioxygènes naturels de l'olive et son huile. Revue française des corps gras.1992, vol.39, n°2, pp. 25-32.
- [22] MARIE-CLAUDE, Maritini, MONIQUE, Seiller. Actifs et additifs en cosmétologie, Paris, Tec et Doc., 1997, 632 p, ISBN : 2-7430-0191-7.
- [23] CHAVERON, Henri.. Molécules toxiques : Molécules formées au cours des réactions d'oxydation, In : Introduction à la toxicologie nutritionnelle, Londres : Tec Et Doc, 1999, pp.175-183.
- [24] PENFIELD, Marjorie., CAMPBELL., Ada. Fats and their lipids constituents. Chemical reactions of lipids, In: Experimental food science, San Diego: Academic Press, 1990, pp. 340-347.
- [25] MARC, Françoise., DAVIN, André., DEGLENE-BENBRAHIM, Laurence., FERRAND, Carine., BACCAUNAUD, Michel., FRITSCH, Pierre.Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments, Medical Sciences .2004, vol.20, n°4, pp. 458-463
- [26] AMEZOUAR, Fatima, BADRI, Wadi., HSAINE, Mohammed., BOURHIM, Noureddine, FOUGRACH, H. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of Erica arborea L. From Morocco. Pathology Biology.2013, vol.61, pp.254-258
- [27] TAGA., M.S., MILLER, E.E., PRATT, D.E., Chia suda as a source of lipid antioxydants, Journal of the American Oil Chemists' Society. 1984. vol.61, pp.928-931.
- [28] BRAND-WILLIAMS, Wendy., CUVELIER, Marie-Elisabeth, BERSET, Claudette. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity.LWT - Food Science and Technology. 1995, vol.28, pp. 25-30.

- [29] HUANG, Dejian., OU, Boxin., PRIOR, Ronald.L. The chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, vol. 53, n°6, pp.1841-1856.
- [30] DI MEO, Florent , LEMAUR, Vincent , CORNIL, Jérôme, LAZZARONI, Roberto, DUROUX, Jean-Luc, OLIVIER, Yoann, TROUILLAS, Patrick .Free Radical Scavenging by Natural Polyphenols: Atom versus Electron Transfer. *Journal of Physical Chemistry*.2013, vol.117, n°10, pp.2082-2092.
- [31] LEVY, Nicolas. 2012, Étanchéité, amortissement, transport ? le caoutchouc synthétique fête ses 100 ans ! Germany , le service de communication de Lanxess, 2012.[Consulté le 5 mars 2014]. Disponible sur :< <http://culturesciences.chimie.ens.fr>>
- [32]Analyse pétrochimique : assurance qualité des produits pétroliers : Metrohm, 2012
- [33] SHARMA, Rakesh.Polyphenols in Health and Disease: Practice and Mechanisms of Benefits. In: Ronald. Watson, Victor. Preedy, Sherma., Zibadi. (Eds). *Polyphenols in Human Health and Disease* [en ligne]. Cambridge Massachusetts (USA): Academic Press.2014, pp. 757-778. [Résumé consulté le 20 mai 2015], vol.1. Disponible à l'adresse: <https://www.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2>
- [34] GOLLÜCKE, Andréa Pittelli Boiago , PERES, Rogério Correa, RIBEIRO, Daniel Araki, AGUIAR, Odair . Polyphenols as Supplements in Foods and Beverages: Recent Methods, Benefits and Risks , In: Ronald. , Watson, Victor. Preedy, Sherma. Zibadi (Eds). *Polyphenols in Human Health and Disease* [en ligne]. Cambridge Massachusetts (USA): Academic Press.2014, pp 71-77. [Résumé consulté le 25 mai 2015], vol.1. Disponible à l'adresse:<https://www.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2>
- [35] FERNANDEZ, Xavier, MERCK, Florence., KERDUDO, Audrey .Conservateurs pour cosmétiques – Généralités et conservateurs antimicrobiens.2012, Techniques de l'ingénieur.
- [36] WARNER, David ., SHENG, Huaxin ., BATINIĆ-HABERLE, Ines ., Oxidants, antioxidants and the ischemic brain. *Journal of Experimental Biology*. 2004, vol. 207, n°18, pp. 3221–3231.
- [37] HERBERT, Richard. *The Biosynthesis of Secondary Metabolites* [en ligne] . Berlin: Springer Netherlands, 1989. [Consulté le 15 juin 2015]. Disponible sur : <<https://www.springer.com/gp/book/9789400958357> >
- [38] MEHINAGIC, Emira, BOURLES, Erwan, JOURJON, Frédérique. Composés des fruits d'intérêt nutritionnel: impact des procédés de transformation sur les polyphénols. *Revue suisse Viticulture, Arboriculture, Horticulture*.2011, Vol.43, n° 6, pp. 364-368.
- [39] RODRIGO, Ramon , LIBUY, Matias , FELIU , Felipe, HASSON, Daniel. Polyphenols in disease: from diet to supplements. *Current Pharmaceutical Biotechnology*.2014, vol. 15, pp. 304-317.
- [40] MACHEIX, Jean-Jacques , FLEURIET, Annie, BILLOT, Jean. The main phenolics of fruit. In:*Fruit phenolics* [en ligne]. Boca Raton: CRC Press, 1990,116 p.[Résumé consulté le 01 février 2016]. Disponible à l'adresse : <https://www.taylorfrancis.com/books/9781351072175>

- [41] KERMASHA, S., GOETGHEBEUR, M., DUMONT, J. Determination of phenolic compound profiles in Maple products by High performance liquid chromatography. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 1995, vol. 43, pp.708-716
- [42] RICE-EVANS, Catherine, MILLER., Nicholas, PAGANGA , George . Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids (Review).*Free radical in biology and medicine*.1996, vol. 20, pp. 933-956.
- [43] Theriault., Mylène. Etude des propriétés antioxydants et antimutagènes de composés phénoliques issus de l'érable. Thèse de Maitre en Sciences : Microbiologie appliquée. France : INRS, Institut Armand Frappier, 2004, 107p.
- [44] HAGERMAN, Ann. E., RIEDL, Ken. M., JONES, G. Alexander , SOVIK, Kara.N., RITCHARD,Nicole.T, HARTZFELD , Paul.W., RIECHEL., Thomas. L .High molecular weight plant polyphenolics (Tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.1998, vol.46,pp.1887-1892.
- [45] SARNI-MANCHADO, Pascale, CHEYNIER, Véronique. Les polyphénols en agroalimentaire, Paris : Lavoisier Tec et Doc, 2006, 398 p.
- [46] ESCARPA, Alberto, GONZALES, M.C.. An overview of analytical chemistry of phenolic compounds in foods, *Critical reviews in analytical chemistry*.2001, vol. 31 , n°2, pp.57-139.
- [47] BRUNETON, Jean. *Pharmacognosie Phytochimie : Plantes médicinales*, Paris : Lavoisier Tec et Doc ,1999, 3^{ème} éd. , 1120p.
- [48] HASLAM , E., CAI, Y. .Plant polyphenols (vegetable tannins): gallic acid metabolism. *Natural Product Reports*.1994, vol.11, n°1, pp. 41-66
- [49] SCALBERT, Augustin . Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*. 1991, vol.30, pp.3875-3883.
- [50] BRUNETON, Jean, 1993, *Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales*, Paris : Lavoisier Tec et Doc, 1993, 2^{ème} éd, 915 p.
- [51]COWAN, Marjorie Murphy.Plant products as antimicrobial agents, *Clinical Microbiology Reviews* , 1999, vol.12, n°4, pp. 564-582.
- [52] GERHARD , Richter. *Métabolisme des végétaux. Physiologie et Biochimie*. Suisse, Lausanne : Presses Polytechniques et Universitaires Romandes (PPUR),1993, 544 p.
- [53] BOURGAUD, Frederic, HEHN, Alain, LARBAT, Romain, DOERPER, Sébastien, GONTIER, Eric, KELLNER, S., MATERN, Ulrich. Biosynthesis of coumarins in plants: a major pathway still to be unravelled for cytochrome P450 enzymes. *Phytochemistry Reviews*.2006, vol.5, pp.293-308.

- [54] DANGLES, Olivier., 2006. Propriété chimiques des polyphénols. In : SARNI-MANCHADO, Pascale, CHEYNIER, Véronique . Les polyphénols en agroalimentaires [en ligne] . Paris: Lavoisier Tec et Doc, 2006, pp. 29-50. [Résumé consulté le 08 aout 2015]. Disponible à l'adresse : <https://www.lavoisier.fr/livre/agro-alimentaire/les-polyphenols-en-agroalimentaire/sarni-manchado/descriptif-9782743008055>
- [55] CROZIER, Alan. , CLIFFORD, Mike. N., ASHIHARA, Hiroshi. Plant Secondary Metabolites: Occurrence, Structure and Role in the Human Diet. Oxford: Blackwell Publishing Ltd.2006, 384p. ISBN-13: 978-1-4051-2509-3
- [56] CHAOUICHE, Tarik Contribution à l'étude des activités antioxydantes et antimicrobiennes des extraits de quelques plantes médicinales. These de doctorat : Biologie. Algerie: Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen, 2014, 121 p.
- [57] DE RIJKE, Eva , OUT, Pieter, NIESSEN, Wilfried.M.A , ARIESE, Freek, GOOIJER, Cees, BRINKMAN, Udo A Th.Analytical separation and detection methods for flavonoids. Journal of Chromatography A. 2006, vol.1112, n°2, pp.31 - 63.
- [58] AKROUM, Souad . Etude Analytique et Biologique des Flavonoïdes Naturels . Doctorat en sciences : physio-toxicologie , Algerie : Université Mentouri de Constantine, 2011.113p
- [59] HARBORNE , Jeffrey.B, WILLIAMS, Christine.A. Advances in flavonoid research since 1992. Phytochemistry.2000, vol.55, n°6, pp. 481-504.
- [60] THOMAS, Michel. Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification : application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*).Thèse de Doctorat, France : Université d'Orléans, 2011.286 p
- [61] HIGDON, Jane.V., FREI, Balz .Tea catechins and polyphenols: health effects, metabolism, and antioxidant functions. Critical Reviews in Food Science and Nutrition.2003, vol.43, n°1, pp. 89-143
- [62] MIDDLETON, Evan. , KANDASWAMI, Chithan.C., THEOHARIDES., Theoharis.The Effects of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implications for Inflammation, Heart Disease and Cancer. Pharmacological Reviews.2000, vol. 52, n°4, pp.673-751.
- [63] KSOURI Riad , MEGDICHE Wided ,DEBEZ Ahmed ,FALLEH Hanen ,GRIGNON Claude, ABDELLY chedly. Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*.Plant Physiologi and Biochemistry.2007, vol.45, N°3-4, pp.244-249.
- [64] SHOAB, Mohammad, SHAH, Ismail, ALI, Niaz , ADHIKARI, Achyut, TAHIR, Muhammad nawaz , ALI SHAH, Syed Wadood, ISHTIAQ, Saiqa , KHAN, Jahangir , KHAN, Shahzeb, NAVEED UMER, Mohammad. Sesquiterpene lactone! a promising antioxidant, anticancer and moderate antinociceptive agent from *Artemisia macrocephala* jacquem. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2017, vol. 17, n°27.
- [65] AMAWI, Haneen , R ASHBY, Charles, SAMUEL, Temesgen ,PERAMAN, Ramalingam , TIWARI, Amit.K. Polyphenolic Nutrients in Cancer Chemoprevention and Metastasis: Role of the Epithelial-to-Mesenchymal (EMT) Pathway. Nutrients.2017, vol.9,n°8. p 911

- [66] LALL, Rahul K., SYED, Deeba.N., ADHAMI, Vaqar.M., KHAN, Mohammad Imran, MUKHTAR, Hasan. Dietary Polyphenols in Prevention and Treatment of Prostate Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015, vol.16, n°2, pp.3350–3376.
- [67] SANCHO, M., MACH., N. Efecto de los polifenoles del vino sobre la prevención del cáncer. *Nutrición Hospitalaria*. 2015, vol.31, n°2, pp.535-551
- [68] BRIZUELA, Leyre, MARTIN, Claire , JEANNOT, Pauline , ADER, Isabelle , GSTALDER, Cécile , ANDRIEU, Guillaume , BOCQUET, Magalie, LAFFOSSE, Jean, Michel, GOMEZ-BROUCHET, Anne, MALAVAUD, Bernad, SABBADINI, Roger. A, CUVILLIER , Olivier . Osteoblast-derived sphingosine 1-phosphate to induce proliferation and confer resistance to therapeutics to bone metastasis-derived prostate cancer cells. *Molecular oncology*.2014, Vol.8, n°7, pp. 1181-1195
- [69] NOWAK, Renata, OLECH, Marta, NOWACKA-JECHALKE, Natalia . Plant Polyphenols as Chemopreventive Agents. In: Ronald. Watson, Victor., Preedy, Sherma., Zibadi. (Eds). *Polyphenols in Human Health and Disease*, Cambridge Massachusetts (USA): Academic Press, 2014, pp. 1289–1307. [Résumé consulté le 09 septembre 2015], vol.2. Disponible: <https://www.elsevier.com/>
- [70] CASTRO, Gerardo Daniel, CASTRO, José A. Alcohol drinking and mammary cancer: Pathogenesis and potential dietary preventive alternatives. *World Journal of Clinical Oncology*.2014, vol.5, n°4, pp.713-729
- [71] VALAVANIDIS, Athanasios, VLACHOGIANNI, Thomais. Plant Polyphenols: Recent Advances in Epidemiological Research and Other Studies on Cancer Prevention. In: Atta-ur-Rahman (Ed)., *Studies of Natural Products Chemistry* [en ligne]. Amsterdam: Elsevier , 2013. pp.269-295. [Consulté le 30 Octobre 2015], vol.39. Disponible en format word à l'adresse : <https://www.researchgate.net>
- [72] BELAYACHI, Lamiae , ACEVES-LUQUERO, Clara, MERGHOUB, Nawel, BAKRI, Youssef, FERNANDEZ DE MATTOS, Silvia , AMZAZI, Saaïd, VILLALONGA, Priam. Retama monosperma n-hexane extract induces cell cycle arrest and extrinsic pathway-dependent apoptosis in Jurkat cells. *BMC Complementary Medicine and Therapies*. 2014, vol.14, n°38, pp.1-12.
- [73] DI DOMENICO, F. , FOPPOLI, C., COCCIA, R., PERLUIGI, M. Antioxidants in cervical cancer: chemopreventive and chemotherapeutic effects of polyphenols , *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*.2012, vol.1822, n°5, pp. 737-747.
- [74] SCALBERT , Augustin, WILLIAMSON, Gary. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *Journal of Nutrition*.2000, vol.130(8S Suppl), pp.2073S-85S. Doi: 10.1093/jn/130.8.2073S.
- [75] DAVINELLI, Sergio, CHIOSI, Flavia, DI MARCO, Roberto, COSTAGLIOLA, Ciro, SCAPAGNINI, Giovanni. Cytoprotective Effects of Citicoline and Homotaurine against Glutamate and High Glucose Neurotoxicity in Primary Cultured Retinal Cells. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.2017, doi: 10.1155/2017/2825703

- [76] MENAA , Farid, MENAA, Abder, TRÉTON, Jacques .Polyphenols against Skin Aging. In: Ronald. Watson, Victor., Preedy, Sherma., Zibadi (Eds). Polyphenols in Human Health and Disease[en ligne].Cambridge Massachusetts (USA): Academic Press, 2014, pp. 819-827.[consulté le 17 septembre 2015], vol.1, Disponible à l'adresse: <https://www.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2>
- [77] KUMAR, Yashwant , BHATIA, Alka. Polyphenols and Skin Cancers, In: Ronald. Watson, Victor., Preedy, Sherma., Zibadi. (Eds). Polyphenols in Human Health and Disease[en ligne]. Cambridge Massachusetts (USA): Academic Press,2014,pp. 643-653 [Résumé consulté le 25 septembre 2015], vol.2.Disponible à l'adresse: <https://www.elsevier.com/books/polyphenols-prevention-and-treatment-of-human-disease/watson/978-0-12-813008-7>
- [78] KUSUMAWATI, Idha , INDRAYANTO, Gunawan. Natural Antioxidants in Cosmetics.Studies in Natural Products Chemistry.2013, vol 40. pp.485-505. DOI: 10.1016/B978-0-444-59603-1.00015-1
- [79]PIMPLE , Bhushan P. , BADOLE, Sachin L. Polyphenols in Chronic Diseases and their Mechanisms of Action. In: Ronald. Watson, Victor., Preedy, Sherma., Zibadi. (Eds). Polyphenols in Human Health and Disease[en ligne], Cambridge Massachusetts (USA):Academic Press.2014, pp. 1401-1419. [Résumé consulté le 09 octobre 2015].vol 1.Disponible à l'adresse: <https://www.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2>.
- [80] HOSSEN, Mohammed Sakib , GAN, Siew Hua , KHALIL, Mohammed Ibrahim . Melittin, a Potential Natural Toxin of Crude Bee Venom: Probable Future Arsenal in the Treatment of Diabetes Mellitus. Journal of Chemistry .2017, pp. 1-7. ID 4035626;<https://doi.org/10.1155/2017/4035626>
- [81] EBRAHIMI, Azadeh, SCHLUESENER, Hermann. Al polyphenols against neurodegenerative disorders: Potentials and pitfalls.Ageing Research Reviews.2012, vol.11,pp. 329-345
- [82] PENOV, N.D., KATSHAROVA, S.A., BRUSHLYANOVA, B.P. Optimizing component composition of functional foods with beneficial effects on the cardiovascular system. Bulgarian Journal of Agricultural Sciences.2014, vol.20, n°1,pp. 199-202.
- [83] MORAND, Christine, MILENKOVIC, Dragan. Polyphénols et santé vasculaire: mise en évidence du rôle direct des polyphénols dans les effets bénéfiques des agrumes dans la protection vasculaire. Innovations Agronomiques. 2014, vol. 42, pp. 47-62.
- [84] CASTRO-CORREIA, Cintia, CORREIA-SA, Luisa , NORBERTO, Sonia, DELERUE-MATOS, Cristina, DOMINGUES, Valentina, COSTA-SANTOS , Cristina FONTOURA, Manuel, CONCEIÇÃO, Calhau. Phthalates and type 1 diabetes: is there any link?. Environmental Science and Pollution Research. 2018, vol. 25, n°18, pp. 17915–17919.
- [85] MURNI Nazira Sarian, QAMAR UDDIN Ahmed, SITI ZAITON MAT So'ad, ALHASSAN Muhammad Alhassan, SUGANYA Murugesu, VIKNESWARI Perumal, SHARIFAH NURUL AKILAH Syed Mohamad, ALFI Khatib et JALIFAH Latip. Antioxidant and Antidiabetic Effects of Flavonoids: A Structure-Activity Relationship Based Study. BioMed Research International.2017

- [86] ADIL, M., MANSOORI, M.N., SINGH, D., KANDHARE, A.D., SHARMA, M. Pioglitazone-induced bone loss in diabetic rats and its amelioration by berberine: A portrait of molecular crosstalk. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017, vol. 94, pp.1010-1019
- [87] GUARINO, Daniela, NANNIPIERI, Monica, IERVASI, Giorgio, TADDEI, Stefano, BRUNO, Rosa Maria. The Role of the Autonomic Nervous System in the Pathophysiology of Obesity. *Frontiers in Physiology*. 2017, vol.14, n°8, p.665.
- [88] MENDIVIL-PEREZ, Miguel, VELEZ-PARDO, Carlos, JIMENEZ-DEL-RIO, Marlene. Neuroprotective effect of the LRRK2 kinase inhibitor PF-06447475 in human nerve-like differentiated cells exposed to oxidative stress stimuli: implications for Parkinson's disease. *Neurochemical Research*. 2016, vol.4, n°10, pp. 2675-2692.
- [89] VAUZOUR, David, KERR, Jason, CZANK, Charles. Plant Polyphenols as Dietary Modulators of Brain Functions. In: Ronald. Watson, Victor., Preedy, Sherma., Zibadi. (Eds). *Polyphenols in Human Health and Disease*[en ligne]. Cambridge Massachusetts (USA): Academic Press.2014, pp. 357-370.[Résumé consulté le 11 Novembre 2015], vol.1. Disponible à l'adresse: <https://www.elsevier.com/books/polyphenols-in-human-health-and-disease/watson/978-0-12-398456-2>
- [90]JAYASENA, T., POLJAK, A., SMYTHE, G., BRAIDY, N., MÜNCH, G., SACHDEV, P. The Role of Polyphenols in the Modulation of Sirtuins and Other Pathways Involved in Alzheimer's Disease. *Ageing Research Reviews*.2013, vol.12, n°4, pp.867-883.
- [91] CHOI, Dong-Young, LEE, Young-Jung, HONG, Jin Tae, LEE, Hwa-Jeong. Antioxidant Properties of Natural Polyphenols and Their Therapeutic Potentials for Alzheimer's Disease. *Brain Research Bulletin*. 2012, vol 87, n° 3, pp. 144-153.
- [92] MIGUEL, Maria Graça. Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of Essential Oils: A Short Review. *Molecules*. 2010, vol.15, n°12, pp.9252-9287
- [93] Ciccarelli, Daniela, GARBARI, Fabio, M.A. PAGNI, Anna, M. Glandular hairs of the ovary: a helpful character for Asteroideae (Asteraceae) taxonomy? . *Annales Botanici Fennici*.2007, vol.44,n°1, pp. 1-7.
- [94] FAURON, Robert, MOATI, Roger, DONADIEU, Yves. *Guide pratique de phytothérapie*. France : Maloine.1983, 245 p. ISBN-10 : 2224008708
- [95] FOURNIER, P. *Livre des plantes médicinales et vénéneuses de France*. France : Lechevalier . 1948, 79 p. ISBN : 978-2-258-08434-6
- [96] STAVRIANAKOU, Sotiria, LIAKOPOULOS, Georgios, KARABOURNIOTIS, George. Boron deficiency effects on growth, photosynthesis and relative concentrations of phenolics of *Dittrichia viscosa* (Asteraceae). *Environmental and Experimental Botany*.2006, vol.56,n°3, pp.293-300.
- [97] SALHI, Hadjer, SEHAL, Imene. *Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'inule visqueuse*. Projet de fin d'étude : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger, 2012.61 p.

- [98] BOUHADJERA, wafa. Etude histométrique de l'espèce *Inula viscosa*, dans la région de Tlemcen. Mémoire de Master : Ecologie et Environnement. Algérie : Université de Tlemcen, 2017. 60p.
- [99] BENAYACHE, Samir, BENAYACHE, Fadila, DENDOUGUI, Hocine, JAY, M. Les flavonoïdes d'*Inula viscosa* L. *Plantes médicinales et phytothérapie*. 1991, vol.25, n°4, pp. 170-176.
- [100] NIKOLAKAKI, Anna, CHRISTODOULAKIS, Nikolaos.S. Leaf structure and cytochemical investigation of secretory tissues in *Inula viscosa*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2004, vol.144 ,n°4, pp. 437-448.
- [101] ABRAHAM, Fahn. Secretory tissues in vascular plants. *New Phytologist*. 1988, vol.108, pp.229-257
- [102] PAROLIN, Pia, SCOTTA, Michela Ion, BRESCH, Cécile. Notes on the phenology of *Dittrichia viscosa*. *Journal of Mediterranean Ecology*. 2013, vol.12, pp. 27-35
- [103] PAROLIN, Pia, SCOTTA, Michela Ion, BRESCH, Cécile. Biology of *Dittrichia viscosa*, a Mediterranean ruderal plant: a review. *Fyton*. 2014, vol.83, pp. 2251-262
- [104] HAOUÏ , Imad Eddine., DERRICHE ,Ratiba, MADANI ,Leila, OUKALI,Zahia. Analysis of the chemical composition of essential oil from Algerian *Inula viscosa* (L.) Aiton. *Arabian Journal of Chemistry*. 2011, vol.21, n°4. pp. 587-590. doi:10.1016/j.arabjc.2011.05.005
- [105] ULUBELEN. , Ayhan , GOUN., S. Sesquiterpene acids from *Inula viscosa*. *Phytochemistry*. 1986, vol.26 , n°4, pp.1223-1224
- [106] AIT- YOUSSEF, Mohand. *Plantes médicinales de Kabylie* [en ligne]. Nancy :Ibis Press, 2006 [consulté le 5 septembre 2019], 158p. Disponible sur < <https://halldulivre.com>>
- [107] BOULUS, Loufty. *Medicinal plants of North Africa*, Michigan, USA: Reference Publications, 1983. p 127.
- [108] CHARL., Z. Effets cicatrisants de *Inula viscosa* sur les brûlures expérimentales chez le lapin. Thèse de Magister : discipline. Algérie : Université de Mentouri Constantine. 1999. 97 p.
- [109] HMAMOUCHE, Mohammed. *Les plantes médicinales et aromatiques*, Maroc : Imprimerie de Fedala, 389 p.
- [110] BELLAKHDAR, Jamal. Contribution à l'étude de la pharmacopée traditionnelle au Maroc : la situation actuelle, les produits, les sources du savoir. Thèse de Doctorat : Sciences de la vie. France : Université de Metz. 1997.
- [111] ALARCON DE LA LASTRA, C. , LOPEZ, A., MOTILVA, V. Gastroprotection and prostaglandin E2 generation in rats by flavonoids of *Dittrichia viscosa*. *Planta Medica*. 1993, vol.59, n°6, pp. 497-501.
- [112] YANIV, Zohara, DAFNI, Amots, FRIEDMAN, Jacob, PALEVITCH, Dan. Plants used for the treatment of diabetes in Israel. *Journal of Ethnopharmacology*. 1987, vol.19, n°2, pp.145-151.

- [113] DJEDIOUI, Abdallah. Evaluation de l'activité hypoglycémisante et anti-hyperglycémisante de l'extrait aqueux d'*Inula viscosa*; une plante de l'est algérien chez le rat avec un diabète induit, Thèse de Magister : Biochimie. Algérie. Université Badji Mokhtar.2010. 90p.
- [114] KATTOUF,J , BELMOUKHTAR,M , HARNAFI,Hichem, MEKHFI, Hassane, ZIYAT, Abderrahim,AZIZ, M, BNOUHAM, Mohammed, LEGGSYER, Abdekhaleq .Effet antihypertenseur des feuilles d'*Inula viscosa*, *Phytotherapie*.2009, vol.7,n°6,309-312.
- [115] BÉZANGER-BEAUQUESNE, Lucienne, PINKAS,M, Torck,M, TROTIN, F. Plantes médicinales des régions tempérées . *Journal d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*.1982, vol. 29, n°1,pp. 108-109.
- [116] CONESA , Héctor.M, MARIA-CERVANTES, A., ALVAREZ-ROGEL, Jose, GONZALEZ-ALCARAZ , Maria Nazaret. Influence of soil properties on trace element availability and plant accumulation in a Mediterranean salt marsh polluted by mining wastes: Implications for phytomanagement RID A-3481-2009. *Science of the Total Environment*. 2011,vol.409,n°20. pp.4470-4479.
- [117] PAROLIN , Pia, BRESCH , Cécile, BRUN , Richard, BOUT, Alexandre, BOLL, Roger , DESNEUX, Nicolas, PONCET, Christine. Secondary plants used in biological control: a review. *International Journal of Pest Management*.2012, vol.58, n°2,pp. 91-100.
- [118] NAWAFLEH, E., IRSHEDAT, M., BATAINEH, T., MUHAIDAT, Riyadh, AL-QUDAH, Mahmoud, ALOMARY, Ahmed.A.2012. The effects of *Inula viscosa* Extract on corrosion of copper in NaOH Solution. *Res.J.Chem.Sci*. vol.2,n°9, pp.37-41,
- [119] SALIM, Hatim, RIMAWI,Waleed H., MJAHEB, Arwa. Analysis of Extracts From Palestinian *Inula Viscosa* for Their Phenolic, Flavonoid and Lipid Contents, Antioxidant and Antibacterial Activity. *Journal of Chemistry and Biochemistry*.2017,vol.5,n°1,pp.12-23. DOI: 10.15640/jcb.v5n1a2
- [120]MAHMOUDI ,Hela, HOSNI ,Karim, ZAOUALI, Wafa ,AMRI ,Ismail, ZARGOUNI ,Hanene, BEN HAMIDA ,Nesrine , KADDOUR ,Rym, HAMROUNI ,Lamia, BEN NASRI ,Mouhiba, OUERGHI, Zeineb. Comprehensive Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antifungal Activities of *Inula viscosa* Aiton Leaves.*Journal of food safety*. 2016, vol.36,n°1, 77-88.
- [121]CHAHMI Naima, ANISSI Jouad, Jennan Sanae, FARAH Abdellah, SENDIDE , Khalid, EL HASSOUNI, Mohammed. Antioxidant activities and total phenol content of *Inula viscosa* extracts selected from three regions of Morocco. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*.2015, vol.5,n°3, pp.228-233.
- [122]ABU-QATOUSEH , Luay , BOUTENNOUNE, Hanane, BOUSSOUF, Lilia., MADANI, Khodir., SHIHAB, Penelope., AL-QAOUD, Khaled.In vitro susceptibility of *Helicobacter pylori* to urease inhibitory effects of polyphenolic extracts of local herbs from Algeria. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*.2013, vol.3,n°4.9p.
- [123] GÖKBULUTA, Alper, ÖZHANA ,Onural, SATILMIŞ ,Basri, BATÇIOĞLUB ,Kadir, GÜNALC, Selami , ENGIN, Şarer. Antioxidant and Antimicrobial Activities, and Phenolic

Compounds of Selected Inula species from Turkey. Natural Product Communications. 2013, vol.8,n°4, pp. 475 – 478

[124]AOUCHER, Hocine.Extraction et valorisation des polyphénols d'inule visqueuse. Projet de fin d'étude : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger, 2010. 68 p.

[125] MAHMOUDI , Lamia, ROUGOU, N. Extraction et valorisation des extraits de l'inule visqueuse d'Alger. Projet de fin d'étude : Génie chimique.Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger, 2009.99 p.

[126] ATIK BEKKARA, Fouzia , BENHAMMOU, Nabila, PANOVSKA., T.K. Biological activities of the essential oil and ethanolic extract of inula viscosa from the tlemcen region of algeria. Advances in Food Sciences.2009, vol.30, n°3.pp.132-139.

[127]ZOUACHE , F., AY, F. Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse. Projet de fin d'étude : Génie chimique.Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger, 2007.94 p.

[128] TEDJINI, B. Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse. Projet de fin d'étude : Génie chimique.Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger, 2006.96 p.

[129] ZEGGWAGH, Naoufel. Ali, OUAHIDI, M. L., LEMHADRI, A., EDDOUKS, Mohamed. Study of Hypoglycaemic and Hypolipidemic Effects of Inula Viscosa L. Aqueous Extract in Normal and Diabetic Rats. Journal of Ethnopharmacology. 2006, vol.108, n°2, pp. 223–227. DOI: 10.1016/j.jep.2006.05.005.

[130] MAOZ, M., NEEMAN, I. Effect of Inula viscosa extract on chitin synthesis in dermatophytes and candida albicans .Journal of Ethnopharmacology.2000, vol.71,n°3, pp. 479-482.

[131] DIBERT, Kouao. Contribution à l'étude de l'extraction solide-liquide de l'huile et de l'acide chlorogénique du café vert. Thèse de doctorat : Sciences et technologie industrielle de la chimie. France : Université Claude Bernard , 1989. 197 p.

[132] BERTRAND, Cédric. Caractéristiques des extraits végétaux simples et intérêt agro-environnemental. France : Université de Perpignan, 2010, 23p.

[133]MAFART, Pierre, BELIARD, Emile. Génie industriel alimentaire: Techniques séparatives, Tome 2.Edition Lavoisier, 2ème Ed.,2004, 274p.

[134] LEYBROS, Jean, FREMEAUX, Pierre. Extraction solide-liquide aspects théoriques. Techniques de l'ingénieur, traité Génie des procédés J1 077 06, 1990.

[135] AGUILERA, Jean., Michel. Solid-liquid extraction. Food Sciences and Technology. 2003. vol.128,n°4, pp. 35-55.

[136] BOTH, Simom, Chemat, Farid, STRUBE, Jochen. Extraction of polyphenols from black tea- Conventional and ultasound assisted extraction. Ultrasonics Sonochemistry. 2014, vol.21, n°3, pp. 1030-1034.

- [137]IGNAT, Ioana, VOLF, Irina, POPA, Valentin I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chemistry*. 2011, vol.126, n°4, pp.1821-1835.
- [138] LEHTINEN, Pekka, LAAKSO, Simo. Effect of Extraction Conditions on the Recovery and Potency of Antioxidants in Oat Fiber. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*., 1998, vol.46, n°12, pp.4842–4845.
- [139] YILMAZ, Yusuf, TOLEDO, Romeo T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006,vol.19, n° 1, pp. 41-48.
- [140] BOONKIRD, Sumate, PHISALAPHONG, Chada, PHISALAPHONG, Muenduen. Ultrasound-assisted extraction of Capsaicinoids from capsicum frutescens on a lab and pilot plant scale. *Ultrasonics Sonochemistry* . 2008, vol.15, n°6,pp.1075-1079.
- [141] GALVAN d’ALESSANDRO, Leandro, KRİAA, Karim, NIKOV, Iordan, DIMITROVA, Krasimir; Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry. *Separation and Purification Technology*. 2012, vol.93, n°1,pp. 42-47.
- [142] FISCHER, Ulrike A., CARLE, Reinhold, KAMMERER, Dietmar R. Thermal stability of anthocyanins and colourless phenolics in pomegranate (*Punica granatum L.*) juices and model solutions. *Food Chemistry*. 2013, vol. 138, n° 2–3, pp. 1800-1809.
- [143] CISSE, Mady, BOHUON, Philippe, SAMBE, Falillou, KANE, Cheikhou, SAKHO, Mama, DORNIER, Manuel. Aqueous extraction of anthocyanins from hibiscus sabdariffa: Experimental kinetics and modeling. *Journal of Food Engineering*. 2012, vol.109, n°1, pp. 16-21.
- [144] KECHINSKI, Carolina Pereira, GUIMARÃES, Pâmela Virgínia Ramos, NOREÑA, Caciano Pelayo Zapata, TESSARO, Isabel Cristina, MARCZAK, Lígia Damasceno Ferreira. Degradation kinetics of anthocyanins in blueberry juice thermal treatment. *Journal of Food Science*.2010, vol. 75, n°2, pp.173-176.
- [145] LARRAURI, José A., SANCHEZ-MORENO, Concepción, SAURA-CALIXTO, Fulgencio. Effect of temperature on the free radical scavenging capacity of extracts from red and white grape pomace peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*.1998, vol. 46, n°7, pp.2694–2697.
- [146] PRADAL, Delphine. Eco procédés d'extraction de polyphénols antioxydants à partir d'un co-produit agro-alimentaire. Thèse de Doctorat, Université Lille 1, Sciences et Technologies. 2016, 241p.
- [147] AJILA, Chandran.M., BRAR, Khushwinde, VERMA, Mausam, TYAGI, R.D., GODBOUT,Stéphane., VALERO, J.R. Extraction and Analysis of Polyphenols: Recent trends. *Critical Reviews in Biotechnology*.2011,vol. 31, n°3, pp. 227–249.
- [148] GUERRERO, Sanchez, M, TORRES, Sineiro, J. , NUÑEZ , Maria.José. 2008.Extraction of polyphenols from white distilled grape pomace: optimization and modelling. *Bioresource Technology*.2008, vol. 99,n°5, pp.1311 – 1318.

- [149] GROUBERT, Alain. Techniques d'extraction végétale. Mémoire de thèse : Sciences pharmaceutiques et biologiques. France : Université de Montpellier I, 1984.88p.
- [150] BOUSBIA , Nabil. Extraction des huiles essentielles riches en anti-oxydants à partir de produits naturels et de co-produits agroalimentaires. Thèse de Doctorat : Chimie. Algérie : Ecole Nationale Supérieure Agronomique, 2011.176 p.
- [151]GARNEAU, Francois .Xavier., COLLIN, Guy.J., ZAYA, pierre. Huile essentielle de la plante à la commercialisation : manuel pratique, Québec : Corporation Laseve, Université du Québec à chicoutimi.2005,185p.
- [152] CROUZET, Jean.1998.Arômes alimentaires. Techniques de l'ingénieur, F 4 100, Paris
- [153] LUCCHESI , Marie. Elisabeth. Extraction sans solvant assistée par micro-ondes : Conception et application à l'extraction des huiles essentielles. Thèse de doctorat : Sciences et Technologies. France : Université de la Réunion.2005, 143 p.
- [154] PELLERIN, Patrick. Extraction par le CO₂ à l'état supercritique. Ann. Fals. Exp. Chim. 2001, vol.954, n°14, pp. 51-62.
- [155]DUARTE, Carla, MOLDAO-MARTINS, M., GOUVEIA, Ana., BEIRAO DA COSTA Sara, LEITAO Antonio , BERNARDO-GIL, Gabriela. Supercritical fluid extraction of red pepper (*Capsicum frutescens* L.). Journal of Supercritical Fluids, 2004, vol.30, pp. 155 -161.
- [156] BHATTACHARJEE, Paramita, RANGANATHAN, T.V., SINGHAL Rekha S. , KULKARNI Pushpa R. Comparative aroma profiles using supercritical carbon dioxide and Likens-Nickerson extraction from a commercial brand of Basmati rice. Journal of the Science of Food and Agriculture. 2003, vol. 83, pp. 880-883.
- [157] SENORANS, Francisco, RUIZ-RODRIGUEZ, Alejandro, IBANEZ, Elena, TABERA, Javier, REGLERO, Guillermo. Isolation of brandy aroma by countercurrent supercritical fluid extraction. Journal of supercritical Fluids. 2003, vol. 26, N°2, pp. 129-135.
- [158] SARRAZIN, Céline, LE QUÈRE, Jean-Luc, GRETSCH, Catherine, LIARDON, Rémy. Representativeness of coffee aroma extracts : comparison of different extraction methods. Food chemistry. 2000, vol. 70,n°1, pp. 99-106.
- [159] GANZLER, Katalin, SALGO, Andras, VALGO, Klara. A novel sample preparation method for chromatography. Journal of Chromatography. 1986, vol.371, pp. 299-306.
- [160] VEGGI, Priscilla C., MARTINEZ, Julian, MEIRELES, M., MEIRELES, M.Angela A. Microwave-assisted extraction for bioactive compounds theory and practice, Fundamentals of Microwave Extraction. In: Fundamentals of Microwave Extraction. Springer, Boston, MA, 2013, pp.15-52.
- [161] GANZLER, Katalin, SALGO, Andras. Microwave extraction : a new method superseding traditional soxhlet extraction. Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung. 1987, vol. 184,n°4, pp. 274-276.

- [162] NIETO, Antonio, BORRULL, Francesc, POCURULL, Eva, MARCE, Rosa Maria. Pressurized liquid extraction: a useful technique to extract pharmaceuticals and personal-care products from sewage sludge. *Trends in Analytical Chemistry*.2010, vol.29, n° 7, pp.752–764.
- [163]AZMIR, Janatul, ZAIDUL, Islam Sarker Mohamed, RAHMAN, Mokhlesur, SHARIF, Khan Mohamed, MOHAMED, Abdullatif, SAHENA, Ferdosh, JAHURUL, M.H.A., GHAFLOOR, Kashif, NORULAINI, Nik A., MOHD OMAR, A.K. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 2013, vol.17, n° 4, pp. 426-436.
- [164]KAUFMANN, Béatrice , CHRISTEN, Philippe. Recent extraction techniques for natural products: microwave-assisted extraction and pressurized solvent extraction. *Phytochemical Analysis*. 2002, vol.13, n°2, pp.105–113.
- [165] CHEMAT, Farid, TOMAO, Valérie , VIROT, Matthieu. Ultrasound-assisted extraction in food analysis. In *Handbook of Food Analysis Instruments* by Semith ötles. Boca Raton, Florida, USA : CRC Press. 2009, pp. 85 – 103.
- [166] LUQUE DE CASTRO, Maria Dolores, FRIEGO-CAPOTE, Feliciano. Ultrasound assistance to liquid-liquid extraction : A debatable analytical tool. *Analytica Chimica Acta*. 2007, vol. 583, n°1, pp.2 –9.
- [167] CHEMAT, Smain, LAGHA, Ahcene, AIT AMAR, Hamid, BARTELS, Paul V. , CHEMAT, Farid. Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of carvone and limonene from caraway seeds. *Flavour and Fragrance Journal*. 2004a, vol. 19, n°3, pp. 188 – 195.
- [168] MUTHUPANDIAN, Ashokkumar. The characterization of acoustic cavitation bubbles- An overview. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2011, vol. 18, n°4, pp.864-872.
- [169] MASON, Timothy J., LORIMER, John P. *Applied sonochemistry – the uses of power ultrasound in chemistry and processing*. Wiley-VCH Verlag, Weinheim, 2002, 303 p., ISBN 3-527-30205-0
- [170] LECLERCQ, Edith, HAGEMAN, Geja J. Release of inulin by enzymatic liquefaction of chicory roots. *Food Chemistry*. 1985, Vol.18, n°2, pp.131-138.
- [171] SHAH, Shweta, SHARMA, Aparna, GUPTA, Munishwar. Extraction of oil from *Jatropha curcas* seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction. *Bioresource Technology*. 2005, vol.96, n°1, pp. 121-123.
- [172] SAVOVA, Mariana., SAYKOVA, Ilonka. Etude de l'effet des champs électriques pulses sur l'extraction solide-liquide a partir des matières premières végétales. *Revue de génie industriel*.2008, vol.2, pp.33-40
- [173] ALLAF, Tamara. Application de la détente instantanée contrôlée pour l'eco-extraction des produits naturels : intensification & combinaison.Thèse de doctorat : Chimie. France : Université d'Avignon.2013. 180 p.
- [174] REZZOUG Sid Ahmed, CIOFFI, Flavio , ALLAF, Karim. Mise au point d'un procédé thermomécanique d'extraction d'huiles essentielles : Application aux peaux d'oranges. *Proceedings of*

« 12 èmes Rencontres Scientifiques et technologiques des Industries Alimentaires ». AGORAL. Ed. Lavoisier, Paris, 2000, pp. 205-210.

[175] SITI AZIMA Abdul Muttalib, NORIHAM Abdulah, Manshoor , Nazki. Phenolics, antioxidants and color properties of aqueous pigmented plant extracts: *Ardisia colorata* var. *elliptica*, *Clitoria ternatea*, *Garcinia mangostana* and *Syzygium cumini*. *Journal of Functional Foods*.2017, vol.38 , Part A, pp. 232–241.

[176] YAEJIN Woo, HYEJI Lee, YONG-SEOB Jeong, GA Young Shin, JA Gyeong Oh, JONG-SANG Kim, JISUN Oh. Antioxidant Potential of Selected Korean Edible Plant Extracts. *BioMed Research International*. 2017, 9p.

[177] RAMDANI ,Mohamed, ELASRI, Ouahid , SAIDI , Nezha , ELKHIATI , Najat, TAYBI , Fouzi A., MOSTAREH , Mohammed , ZARAALI , Oulya , HALOUI , Benyounes, RAMDANI, Mohammed. Evaluation of antioxidant activity and total phenol content of *Gracilaria bursa-pastoris* harvested in Nador lagoon for an enhanced economic valorization. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*,2017, vol. 4, n°28, 7p.

[178] SADIQ , Muhammad Bilal , THARAPHAN ,Pattamon, CHOTIVANICH, Kesinee, TARNING, Joel ,ANAL, Anil Kumar. *In vitro* antioxidant and antimalarial activities of leaves, pods and bark extracts of *Acacia nilotica* (L.) Del. *Complementary and Alternative Medicine*. 2017, vol.17, n°372, 8p.

[179]AL DABBAS , Maher, Mahmoud Antioxidant activity of different extracts from the aerial part of *Moringa peregrina* [Forssk.] Fiori, from Jordan. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017, vol. 30 , n°6, pp. 2151-2157.

[180] NYAMIEN, Yves B. , CHATIGRE, Olivier , KOFFI, Emmanuel , N. , ADIMA, Augustin , A., BIEGO, Henri , G. Optimization of Polyphenols Extraction Method from Kola Nuts (*Cola nitida* Vent. Schott & Endl.) Using Experimental Design. *Biotechnology Journal International*, 2015, vol.7, n°1, pp. 40-50

[181] XING-HAO ,Tu, HUA ,Zheng , HONG ,Zhang, YING ,Feng , JIN ,Gan, WENWEN, Zhang. Experimental study on fluidized bed drying process of Maca (*Lepidium meyenii* Walp.) tuber. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research* , 2014, vol. 6,n°4, pp. 1185-1193.

[182]VUONG, Quan V, HIRUN, Sathira, ROACH, Paul D., BOWYER, Michael C., PHILLIPS, Phoebe A., SCARLETT , Christopher J. Effect of extraction conditions on total phenolic compounds and antioxidant activities of *Carica papaya* leaf aqueous extracts. *Journal of Herbal Medicine*. 2013, vol 3, n° 3, pp.104-111

[183] MBAIOGAOU , Abel ,HEMA , Adama , OUÉDRAOGO , Mahama, PALÉ , Eloi, NAITORMBAIDE, Michel, MAHAMOUT , Yaya , NACRO, Mouhoussine. Etude comparative des teneurs en polyphénols et en antioxydants totaux d'extraits de graines de 44 variétés de voandzou (*Vigna subterranea* (L.)Verdcourt). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*.2013, vol.7, n°2, pp. 861-871.

- [184] KADRI, Hadjer , DJILANI, Salah Eddine , DJILANI ,Abdelouaheb. Phytochemical constituents, antioxidant activity, total phenolic and flavonoid contents of arisarum vulgare seeds. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*.2013,vol.12,n°2, pp. 169-173.
- [185]KARSHEVA , Milena, KIROVA , Elena, ALEXANDROVA, Sofya. Natural antioxidants from citrus mandarin peels. extraction of polyphenols; effect of operational conditions on total polyphenols contents and antioxidant activity. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*.2013, vol.48, n°1, pp. 35-41.
- [186] MAHMOUDI, Souhila , KHALI, Mustapha , MAHMOUDI , Nacéra. Etude de l'extraction des composés phénoliques de différentes parties de la fleur d'artichaut (*Cynara scolymus L.*). *Nature & Technologie*. 2013, vol.5, n° 9, pp. 35 -40.
- [187] DO , Quy Diem , ANGKAWIJAYA, Artik Elisa, TRAN-NGUYEN ,Phuong Lan , HUYNH, Lien Huong , SOETAREDJO, Felycia Edi, ISMADJI, Suryadi , JU ,Yi-Hsu .Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*. *Journal of Food and Drug Analysis* , 2014, vol .22,n°3, pp.296-302.
- [188]LATOUI,Mohamed , ALIAKBARIAN, Bahar, CASAZZA, Alessandro A. , SEFFEN, Mongi CONVERTI, Attilio , PEREGO, Patrizia. Extraction of phenolic compounds from *Vitex agnus-castus L.* *Food and Bioproducts Processing*. 2012, vol 90, n° 4, , pp. 748-754.
- [189] BONNAILLIE, Clémentine, SALACS , Mathieu, VASSILIOVA, Elena , SAYKOVA, I.Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea L.*).*Chemistry.Revue de génie industriel*. 2012, vol. 7. pp. 35-45
- [190] MACHADO, Mariana T.C., MELLO, Beatriz C.B.S. , HUBINGER, Miriam D. . Study of alcoholic and aqueous extraction of pequi (*Caryocar brasiliense Camb.*) natural antioxidants and extracts concentration by nanofiltration. *Journal of Food Engineering*.2013, vol 117, n° 4, pp. 450-457.
- [191] BOUGANDOURA, Nabila , BENDIMERAD, Nassima .Evaluation De L'activité Antioxydante Des Extraits Aqueux Et Méthanolique De Satureja *Calamintha Ssp.nepeta (l.) Briq.* *Nature et Technologie*. 2012, vol.5, n° 2, pp. 14-19
- [192] BENBRINIS , Soumia. Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne des extraits de *Santolina chamaecyparissus*. Thèse de MAGISTER : Biochimie. Algérie : Université Ferhat Abbas.2012, 84 p.
- [193] GIRONI, Fausto , PIEMONTE , Vincenzo. Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood. *Chemical Engineering Research and Design*.2011, vol. 89, n°7, pp. 857-862.
- [194] MUSSATTO, Solange , CARNEIRO, Livia Melo , ALVES SILVA, João Paulo, TEIXEIRA, José, A, ROBERTO, Ines.A study on chemical constituents and sugar extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*.2011, vol. 83, n°2, pp.368-374
- [195] DOSS, Asirvatham, PUGALENTHI, Muthiah, VADIVEL, Vellingiri.

Antioxidant activity of raw and differentially processed under-utilized tropical legume *canavalia ensiformis* L. dc seeds, south india. The IIOAB Journal.2011, vol. 2, n° 8, pp. 27-32.

[196] PATEL, Avani , PATEL, Amit , PATEL, Amit , PATEL, Naresh. M. Determination of polyphenols and free radical scavenging activity of *Tephrosia purpurea* linn leaves (Leguminosae). Pharmacognosy Research. 2010, vol 2, n°3, pp.152–158.

[197] OJEL, Anthony, EL DARRA, Nada , EL HAJJ, Youssef, BOU MOUNCEF , Paulette , RIZK , Toufic J. , MAROUN, Richard G. IDENTIFICATION ET CARACTERISATION DE COMPOSES PHENOLIQUES EXTRAITS DU RAISIN CHATEAU KSARA. Lebanese Science Journal.2010, vol. 11, n° 2, pp. 117-131.

[198] TELLI , Alia , MAHBOUB, Nasma, BOUDJENEH, Sophia, SIBOUKEUR , Oumelkheir , MOULTI-MATI, Farida. Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols de dattes lyophilisées (*Phoenix dactylifera* L) variété GHARS. Annales des Sciences et Technologie. 2010, vol. 2, n° 2, pp. 107-114.

[199] POMPEU , D R , SILVA, E M, ROGEZ, H . Optimisation of the solvent extraction of phenolic antioxidants from fruits of *Euterpe oleracea* using Response Surface Methodology. Bioresource Technology, 2009, Vol 100, n° 23, pp. 6076-6082.

[200] AOUCHER, Hocine. Extraction et Valorisation des Polyphénols d'Inule Visqueuse. Projet de fin d'études : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger. 2010, 68 p.

[201] MAHMOUDI, L., ROUGOU, N. Extraction et valorisation des extraits de l'inule visqueuse d'alger. Projet de fin d'études : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger. 2009, 99 p.

[202] ZOUACHE , F., AY, F. Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse. Projet de fin d'études : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger. 2007, 94 p.

[203] TEDJINI, B. Extraction des huiles essentielles et des concrètes de l'inule visqueuse. Projet de fin d'études : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger. 2006, 76 p.

[204] SALHI, Hadjer, SEHAL, Imene. Evaluation de l'activité antioxydante des extraits de l'inule visqueuse. Projet de fin d'études : Génie chimique. Algérie : Ecole nationale polytechnique d'Alger. 2012.

[205] WELTI-CHANES, Jorge., MUJICA-PAZ, Hugo., VALDEZ-FRAGOSO, Aurora., LEON-CRUZ, R. 2003. Fundamentals of Mass Transport. In: J, Welti-Chanes, J, Vélez-Ruiz and G, Barbosa-Canovas Eds. Transport Phenomena in Food Processing. Boca Raton (USA): CRC Press ,2003, pp.3-23

[206] ANGELIDIS, Apostolo, S , SMITH , Gary, M. Three transporters mediate uptake of glycine betaine and carnitine by *Listeria monocytogenes* in response to hyperosmotic stress. Applied and Environmental Microbiology.2003, vol.69, n°2, pp.1013-1022

- [207] GERTENBACH, D. D. Solid-liquid extraction technologies for manufacturing nutraceuticals from botanicals. In *Functional Foods Biochemical and Processing Aspects*, edited by J. Shi, G. Mazza, and M. Le Mague, Boca Raton, London, New York, Washington, DC: CRC Press. 2001, pp.331-366
- [208] SCHWARTZBERG, H. G. , CHAO, R. Y. Solute Diffusivities in Leaching Processes. *Food Technology*. 1982,vol. 36, n° 2, pp. 73-86.
- [209] ASANO, Koichi. *Mass Transfer: From Fundamentals to Modern Industrial Applications*. Germany: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2006, 269 p. ISBN: 3-527-31460-1.
- [210] CRANK, John. *The Mathematics of Diffusion*, Oxford, U.K: Clarendon Press, 1975, 398 p. ISBN 0 19 853344 6
- [211] CHILDS, Peter, R, N. *Laws of Motion*. Peter, R, N. *Rotating Flow*. Butterworth-Heinemann. Oxford, 2011, pp. 17-52.ISBN 978-0-12-382098-3.
- [212] MAUCCI, Elizabeth., BRIENS, Christophe , MARTINUZZI, L , WILD, R.J. Modeling of transient particle liquid mass transfer in liquid and liquid-solid systems». *Chemical Engineering Science*.2001, vol. 56,n°5, pp. 4555-4570.
- [213]Mironescu, P , Kravchenko, O. *Théorèmes d'Ostrogradski-Gauss et de Stokes*.Lyon , France : Université Claude Bernard, 2015,2p.
- [214] HERZI , Nejia. *Extraction et purification de substances naturelles : comparaison de l'extraction au CO2-supercritique et des techniques conventionnelles*. Thèse de DOCTORAT : Génie des Procédés et de l'Environnement. Université de Toulouse. France.2013, 185 p.
- [215] PENCHEV, Petko Ivanov. *Étude des procédés d'extraction et de purification de produits bioactifs à partir de plantes par couplage de techniques séparatives à basses et hautes pressions*. Thèse de DOCTORAT : Génie des Procédés et de l'Environnement. Institut National Polytechnique de Toulouse. France. 2010, 239 p.
- [216] CLAYDEN, Jonathan, WARREN, Stuart, GREEVES, Nick. *Chimie organique*.De Bœck Université, Bruxelles (Belgique), 2003, 1530 p. ISBN 2744501492.
- [217]BERNARD Anne-Sophie, CLEDE, Sylvain, EMOND, Matthieu , MONIN-SOYER, Hélène , QUERARD , Jérôme. *Techniques expérimentales en chimie réussir les TP aux concours*. Dunod. Paris, 2012, 166p. ISBN 978-2-10-057538-1.
- [218]SINGLETON, Vernon L., ORTHOFER, Rudolf, LAMUELA-RAVENTOS, Rosa M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*. 1999, vol.299, pp.152-178.
- [219]SINGLETON, Vernon L., Rossi, Joseph A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965, vol.16, pp. 144- 158.
- [220]LAMAISON, J.L.C. , CARNET, A. Teneurs en Principaux Flavonoïdes des fleurs de *Crataegus Monogyna* Jacq et de *Crataegus Laevigata* (Poir) D. C) en Fonction de la Vegetation. *Pharmaceutica Acta Helvetia*. 1990, vol. 65, pp.315-320.

- [221]DI STEFANO, Rosanne, CRAVERO , Maria , Carla, GENFILINI, N. Metodi per lo studio deipolifenolideivini, L'Enotecnico. 1989, vol.5 , pp.83- 89.
- [222]SCHERER, Rodrigo, GODOY , Helena Teixeira. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl method.Food chemistry.2009, vol 112, n°3, pp.654-658.
- [223]SANCHEZ-MORENO , Concepción, LARRAURI , José A, SAURA-CALIXTO , Fulgencio. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of Science of food and agriculture.1998, vol.76, n°2, pp. 270-276.
- [224]QUE , Fei, MAO , Linchun, PAN, Xin. Antioxidant activities of five Chinese rice wines and the involvement of phenolic compounds. Food Research International. 2006, vol.39,n°5, pp. 581-587.
- [225]POPOVICI, Cristina, SAYKOVA,Ilanka, TYLKOWSKI, Bartek. Evaluation de l'activité antioxydante des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH. Revue de génie industriel. 2009, vol.4, pp.25-39
- [226]CHEMAT, Farid. Eco-extraction du végétal : Procédés innovants et solvants alternatifs. France : Technique et ingénierie, Dunod , 2014, 336p.
- [227]CAPELLO, Christian., FISCHER, Ulrich. HUNGERBUHLER, Konrad. What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents.Green Chemistry.2007, vol9, pp.927–934.
- [228]GANI, Rafiqul , JIMENEZ-GONZALEZ , Concepcion, KATE , Antoon Ten, CRAFTS, Peter, A., JONES , Mark , POWELL , Lyn. A Modern Approach to Solvent Selection.Chemical Engineering.2006, vol.113, n°3, pp.30–41.
- [229]LEVEQUE, Jean-Marc, CRAVOTTO, Giancarlo. Microwaves Power Ultrasound, and Ionic Liquids. A New Synergy in Green Organic Synthesis.CHIMIA International Journal for Chemistry.2006,vol.60,n°6, pp. 313-320.
- [230]SCAMMELLS, Peter , John., SCOTT, Janet, L., SINGER, Robert, D.2005.Ionic Liquids: The Neglected Issues. Australian Journal of Chemistry. 2005, vol.58, n°3, pp. 155-169.
- [231] SAVAIKO,B. A Promising Future for Ethanol.World Ethanol and Biofuels Report.2004, vol.2, n°17, pp.20–22.
- [232] TOMASKO,David., LI,Hongbo., LIU, Dehua., HAN, Xiangmin, Wingert, Maxwell, J, LEE, James, L., KOELLING, Kurt, W.2003. A Review of CO₂ Applications in the Processing of Polymers. Industrial & Engineering Chemistry Research.2003, vol.42,n°25, pp. 6431–6456.
- [233]KOLLER, Guntram, FISCHER, Ulrich. HUNGERBUHLER, Konrad. Assessing Safety, Health, and Environmental Impact during Process Development. Industrial & Engineering Chemistry Research.2000, vol.39,n°4, pp. 960–972.
- [234]CURZONS,Alan.D, CONSTABLE, David.C., CUNNINGHAM, Virginia.L. Solvent Selection Guide: A Guide to the Integration of Environmental, Health and Safety Criteria into the selection of solvents, Clean Products and Processes.1999,vol.1, pp.82-90.

- [235]NOYORI, Royoji. Supercritical Fluids: Introduction, Chemical Reviews.1999, vol.99, n°2, pp.353–354
- [236]GOUPY , Jacques. Introduction aux plans d'expériences,Paris : Dunod, 2006,401p.
- [237]LAMURE, Alain, METHODOLOGIE DES PLANS D'EXPERIENCES, Toulouse : INP-ENSIACET, 2007, 54 p.
- [238]HERVÉ Maxime.Aide-mémoire de statistique appliquée à la biologie Construire son étude et analyser les résultats à l'aide du logiciel R,France : INRA, 2016, 203 p.
- [239]LOPEZ , Aroa , SUAREZ DE TANGIL, Miguel , VEGA-ORELLANA, Orestes, RAMIREZ, Ana S , RICO, Milagros . Phenolic constituents, antioxidant and preliminary antimycoplasmic activities of leaf skin and flowers of Aloe vera (L.) Burm. f. (syn. A. barbadensis Mill.) from the Canary Islands (Spain). Molecules . 2013 ,vol.18, n°5, pp.4942-4954.
- [240]REIS , Sofia, F., RAI , Dilip.K., ABU-GHANNAM , Nissreen. Water at room temperature as a solvent for the extraction of apple pomace phenolic compounds. Food Chemistry.2012,vol.135, n°3, pp. 1991-1998.
- [241]ANGELOV, George. , BOYADZHIEVA, Stanislava.S. , GEORGIEVA, Silviya.S. Rosehip extraction: Process optimization and antioxidant capacity of extracts. Central European Journal of Chemistry .2014, vol. 12, pp.502-508.
- [242]SRITI ELJAZI, Jazia, SELMI, Sawssen, ZARROUG, Youkabet, WESLETI, Ibtissem, AOUINI, Bouthaina, JALLOULI, Selim , LIMAM, Ferid. Essential oil composition, phenolic compound, and antioxidant potential of Inulaviscosa as affected by extraction process. International Journal of Food Properties.2018, vol. 21, n°1, pp. 2309-2319.
- [243] CARCIOCHI, Ramiro, A , SOLOGUBIK , Carlos, A, Fernández, María, B , MANRIQUE, Guillermo D, D'ALESSANDRO Leandro Galván. Extraction of Antioxidant Phenolic Compounds from Brewer's Spent Grain: Optimization and Kinetics Modeling.Antioxidants. 2018, vol.7, n°4, 10 p.
- [244]SANT'ANNA , Voltaire , LIGIA, Adriano, Brandelli, MARCZAK, Damasceno,Ferreira , TESSARO, Isabel,Cristina. Kinetic modeling of total polyphenol extraction from grape marc and characterization of the extracts.Separation and Purification Technology.2012, vol.100, pp.82-87
- [245]DENT, Maja, , DRAGOVIĆ-UZELAC, Verica , PENIĆ , Marija, BOSILJKOV , Tomislav, LEVAJ, Branka. The Effect of Extraction Solvents, Temperature and Time on the Composition and Mass Fraction of Polyphenols in Dalmatian Wild Sage (*Salvia officinalis* L.) Extracts. Food Technology and Biotechnology.2013, vol. 51 , pp. 84-91.
- [246]DURLING , Nicola.E., CATCHPOLE, Owen.J., GREY, John.B., WEBBY, Rosemary.F., MITCHELL, Kevin.A., FOO, L.Yeap. , PERRY, Nigel.B. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol-water mixtures, Food Chemistry. 2007, vol.101, n°4, pp.1417-1425.

- [247]EBLING , Wesche, JAMET, Argaiz.Stabilization mechanisms for anthocyanin: The case for copolymerization reactions.In: WELTI-CHANES, J, BARBOSA-CÁNOVAS, G.V., AGUILERA, J.M. (Eds.).Engineering and food for the 21st century. Florida:CRC Press , 2002, pp. 141-150
- [248]LALEH, G.H., FRYDOONFAR, H., HEIDARY, R., JAMEEI, R. , ZARE, S. The effect of light, temperature, pH and species on stability of anthocyanin pigments in four Berberis species. Pakistan Journal of Nutrition.vol.5, n°1, pp. 90-92.
- [249]DESAI, Meghal.A., PARIKH, Jigisha , Kumar De, Achyut. Modelling and optimization studies on extraction of lemongrass oil from Cymbopogonflexuosus (Steud.) Wats, Chemical Engineering Research and Design. 2014, vol.92 ,n°5, pp.793-803.
- [250]XIE, Yixi, CHEN, Jing, XIAO,Aiping, LIU, Liangliang. Antibacterial Activity of Polyphenols: Structure-Activity Relationship and Influence of Hyperglycemic Condition. Molecules.2017, vol.22, n°11.
- [251]MARTINS, Silvia , MUSSATTO, Solange I , MARTÍNEZ-AVILA, Guillermo , MONTAÑEZ-SAENZ, Julio , AGUILAR, Cristóbal, N , TEIXEIRA , Jose A. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation. A review. Biotechnology Advances. 2011, vol.29, n°3, pp.365-373.
- [252]ORTEGA-GARCIA, Javier, MEDINA-JUAREZ, Luis Angel, GAMEZ-MEZA, Nohemi, NORIEGA-RODRIGUEZ, Juan Antonio. Optimisation of bleaching conditions for soybean oil using response surface methodology. Food science and technology international.2005, vol.11, n°6, pp.443-449.
- [253]DIBERT, K , CROS, Emile , ANDRIEU , Julien. Solvent extraction of oil and chlorogenic acid from green coffee. Part II: Kinetic data. Journal of Food Engineering.1989,vol. 10, n° 3, pp. 199-214
- [254]QUEZEL , Pierre, Santa , S., 1963. Nouvelle flore d'Algérie et des régions désertiques méridionales. Paris : CNRS, 1963, 1170 p.
- [255]SILOU, Thomas., TATY-LOUMBOU, Faustin., CHALCHAT, Jean, Claude. Etude de l'effet du séchage solaire sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles extraites des feuilles d'Eucalyptus citriodora. Annales des falsifications, de l'expertise chimique et toxicologique.2002, vol.95, n° 960, pp. 287-301.
- [256]FLEURIET, Annie , UHEL , Christiane , DEDALDECHAMP , Fabienne . Les composés phénoliques et la qualité des produits d'origine végétale consommés par l'homme. Acta Botanica Gallica.1996, vol.143, n°6, pp. 493-500.
- [257]LIBRAN CUERVAS-MONS, Celia, Maria, MAYOR LOPEZ, Luis, GARCIA CASTELLO, Esperanza, Maria, VIDAL BROTONS, Daniel , José. Polyphenol extraction from grape wastes: Solvent and pH effect. Agricultural Sciences.2012, vol.4, n°9B, pp. 56-62.
- [258]LOGINOV, Maksym , BOUSSETTA , Nadia , LEOVKA, Nikolai , VOROBIEV , Eugene .Separation of polyphenols and proteins from flaxseed hull extracts by coagulation and ultrafiltration. Journal of Membrane Science.2013, vol. 442, pp. 177-186

- [259]ROSELLÓ-SOTO, Elena , MARTÍ-QUIJAL , Francisco , J, CILLA, Antonio , MUNEKATA, Paulo, E, S, LORENZO, Jose, M , REMIZE, Fabienne , BARBA, Francisco J. Influence of Temperature, Solvent and pH on the Selective Extraction of Phenolic Compounds from Tiger Nuts by-Products: Triple-TOF-LC-MS-MS Characterization. *Molecules* , 2019, vol.24, n°4, 13p.
- [260]LAOUINI Salah Eddine, BERRA Djamila, OUAHRANI Mohammed Redha. Solvent pH extraction effect on phytochemical composition and antioxidant properties of Algerian *Matricaria Pubescens*. *Journal of Pharmacy Research*.2016,vol.10, n°2, pp.106-112
- [261]ZAM Wissam, BASHOUR Ghada, ABDELWAHED Wassim, KHAYATA Warid.Effective extraction of polyphenols and proanthocyanidins from pomegranate's peel, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*.2012, vol. 4, n°3, pp. 675-682.
- [262]SRIPAD, G, PRAKASH , V, NARASINGA RAO , M,S. Extractability of polyphenols of sunflower seed in various solvents.*Journal of Biosciences*. 1982, vol. 4, pp.145–152.
- [263]AGBANGNAN , Pascal , Dossa, TACHON , Christine, BONIN, Hélène, CHROSTOWSKA , Anna, FOUQUET , Eric, SOHOUNHLOUE , Dominique, C, K. Phytochemical study of a tinctorial plant of Benin traditional pharmacopoeia: The red sorghum (*sorghum caudatum*) of Benin. *Scientific Study & Research*.2012, vol. 13, n°2, pp. 121- 135
- [264]WALEED , A.Mahmood., SALIH, Sultan,H , SIRWA ,Hamza, R.2009. Extraction and characterization of polyphenol Oxidase from apricot, apple, eggplant and potato.*Mesopotamia Journal of Agriculture*. 2009, vol.37, n°3, pp.28-36
- [265]AMENDOLA ,Danila, DE FAVERI , D.M., SPIGNO ,G.Grape marc phenolics: extraction kinetics, quality and stability of extracts. *Journal of Food Engineering*. 2010, vol.97 , n°3, pp.384-392.
- [266]MARTEAU, Clémentine. Activité antioxydante des phénols : Mécanismes, cinétiques, effets de solvants et synergies. Thèse de Doctorat: Sciences de la matière , du rayonnement et de l'environnement. France : Université LILLE 1, 2013. 303 p.
- [267] EL-HALWAGI, Mahmoud. M., DUNN, Russel, F. Process Integration Technology Review: Background and Applications in the Chemical Process Industry. *Journal Of Chemical Technology and Biotechnology*. 2003, vol.78, n°9, pp.1011–1021. DOI: 10.1002/jctb.738.
- [268]KITANOVIĆ, Siniša, MILENOVIĆ, Dragan,VELJKOVIĆ, Vlada, B. Empirical kinetic models for the resinoid extraction from aerial parts of St. John's wort (*Hypericum perforatum L.*).*Biochemical Engineering Journal*.2008,vol. 41, n° 1, pp. 1-11.
- [269] POIROT, Rachel. METHODOLOGIE POUR LE PASSAGE EN CONTINU D'EXTRACTION DE SOLUTE A PARTIR DE MATIERE VEGETALE. Thèse de Doctorat : Génie des procédés et Environnement. France : Institut National Polytechnique de Toulouse, 2007, 129 p.
- [270] MEBROUK, Kaissa. Modélisation de transfert de matière lors de l'extraction solide liquide. Thèse de Magister : Génie chimique. Algérie : Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 2009, 87 p.

- [271] KEDDOUS, Samer, HAOUI, Imad Eddine . Simulation des procédés d'extraction et de séparation par les réseaux de neurones artificiels. Projet de Fin d'étude : Génie chimique. Algérie : Ecole Nationale Polytechnique d'Alger, 2008, 89 p.
- [272] AMROUCHE, Sarah, DERRICHE, Ratiba, MESSAOUDI, Saida, LAHOVAZI, Naima. Optimization of Phenolic Compounds Extraction from Algerian *Inula Viscosa* (L.) Aiton Leaves. Moroccan Journal of Chemistry. 2016, vol.4,n°4, pp. 1117–1129.
- [273]CIGEROGLU, Zeynep, ARAS, Ömür, PINTO, Carlos, A, BAYRAMOGLU, Mahmut, KIRBASLAR, İsmail, S, LORENZO, José , M, BARBA, Francisco, J, SARAIVA, Jorge, A, ŞAHIN, Selin. Optimization of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grapefruit (*Citrus paradisi* Macf.) leaves via D-optimal design and artificial neural network design with categorical and quantitative variables. Journal of the science of food and agriculture.2018, vol.98, n°12, pp. 4584-4596
- [274]SEGOVIA, Francisco, J, CORRAL-PÉREZ, Juan, J, ALMAJANO, Maria, P. Avocado Seed: Modeling Extraction of Bioactive Compounds. Industrial Crops and Products. 2016, vol.85,pp. 213-220. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.03.005.
- [275]VELICKOVIC, D. T., MILENOVIC, D. M., RISTIC, M. S., VELJKOVIC, V. B. Kinetics of Ultrasonic Extraction of Extractive Substances from Garden (*salvia Officinalis* L.)and Glutinous (*salvia Glutinosa* L.) Sage. Ultrasonics Sonochemistry. 2006, vol.13,n°2, pp. 150-156. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2005.02.002.
- [276]MILENOVIĆ, D.M., VELJKOVIĆ, V.B., TODOROVIĆ, B.T., STANKOVIĆ, M.S.Extraction of resinoids from St. John's wort (*Hypericum perforatum* L): I. Efficiency and optimization of extraction. Hemijska Industrija.2002, vol. 56, n° 2, pp. 54-5
- [277] STANKOVIC, M.Z., CAKIC, M.D.,CVETKOVIC, D.M.,VELJKOVIC, V.B. Kinetics of extraction of resinoids from overground parts of sweet clover (*Melilotus officinalis* L.).Journal of the Serbian Chemical Society.1994, vol.10, n°39, pp.735-741.
- [278] MILOJEVIC, Svetomir, Ž, STOJANOVIC, Tamara, D, PALIC , Radosav, LAZIĆ, Miodrag , L. , .VELJKOVIĆ , Vlada B. Kinetics of Distillation of Essential Oil from Comminuted Ripe Juniper (*juniperus Communis* L.) Berries. Biochemical Engineering Journal. 2008, vol.39,n°3, pp. 547–553
- [279] BENYOUSSEF, El Hadi, CHARCHARI, Stoyka, KOLIAI, Farid. Modélisation du transfert de matière lors de l'extraction de l'essence des graines de coriandre par l'éthanol. Récents Progrès en Génie des Procédés. 2005, n°92, 7p.
- [280]LALOU, A, RIGAL, L, GOURDON, C, CASAMATTA, G. Extraction d'hémicelluloses des coques de tournesol en colonne pulse, mise au point et modélisation d'un procédé pour un matériau végétal complexe. Première conférence maghrébine de génie des procédés. Marrakech, Maroc . Pharmacopée Européenne, 2002.

- [281] SO, George. C, MACDONALD, Douglas, G. Kinetics of Oil Extraction from Canola (rapeseed). *The Canadian Journal of Chemical Engineering*. 1986, vol.64, n°1, pp.80–86. DOI: 10.1002/cjce.5450640112.
- [282] AMARNI, Fatiha, KADI, Hocine. Kinetics Study of Microwave-assisted Solvent Extraction of Oil from Olive Cake Using Hexane : Comparison with the Conventional Extraction. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2010, vol.11,n°2, pp. 322–327.
- [283] MEZIANE, Smail, KADI, Hocine. Kinetics and Thermodynamics of Oil Extraction from Olive Cake. *Journal of the American Oil Chemists's Society*. 2008,vol. 85, n°4, pp. 391–396. DOI: 10.1007/s11746-008-1205-2.
- [284]KIM, Jin, Woo, MAZZA, G. Mass Transfer during Pressurized Low-polarity Water Extraction of Phenolics and Carbohydrates from Flax Shives. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2007,vol. 46,n°22, pp. 7221-7230. DOI: 10.1021/ie070351n.
- [285] SOVOVA, Helena, ALEKSOVSKI, Slavcho, A. Mathematical model for hydrodistillation of essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*. 2006, vol.21, n°6, pp. 881–889.
- [286] HAWTHORNE, Steven. B, POPPENDIECK, Dustin. G, GRABANSKI, Carol. B, LOEHR, Raymond, C. PAH Release during Water Desorption, Supercritical Carbon Dioxide Extraction and Field Bioremediation. *Environmental Science and Technology*. 2001, vol.35,n°22, pp. 4577–4583. DOI: 10.1021/es010771i.
- [287]LINARES, Andrès Ramón, HASE, Sandra, Liliana, VERGARA, Maria, Laura, RESNIK, Silvia, Liliana. Modeling Yerba Mate Aqueous Extraction Kinetics: Influence of Temperature. *Journal of Food Engineering*. 2010, vol.97,n°4, pp. 471–477. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2009.11.003.
- [288] AGUILERA, José, Miguel, STANLEY, David, W. *Microstructures Principles of Food Processing and Engineering*. Chapman & Hall Food Science Book. Gaithersburg, Maryland, Etat unis : Aspen E-Publishing, Inc,1999, 432p. ISBN 978-0-8342-1256-5.
- [289] STAPLEY, Andrew. G. Modeling the Kinetics of Tea and Coffee Infusion. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2002,vol. 82,n°14, pp. 1661–1671. DOI: 10.1002/jsfa.1250
- [290]NAZRUL, Islam, Mohammad, JO, Young-tae , PARK, Jeong-Hun. Determination of Partitioning Coefficient and Desorption Rate for Subcritical Water Extraction of PAHs, 2012, 2nd International Conference on Environmental and Agriculture Engineering IPCBEE , Singapore : IACSIT Press,vol.37, 2012. DOI: 10.1094/PDIS-11-11-0999-PDN
- [291]ANEKPANKUL, Thitiporn, MOTONOBU, Goto, MITSURU, Sasaki, PAVASANT, Prasert, SHOTIPRUK Artiwan,. Extraction of Anti-cancer Damnacanthal from Roots of *Morinda Citrifolia* by Subcritical Water. *Separation and Purification Technology*. 2007, vol.55, n°3, pp.343–349. DOI: 10.1016/j.seppur.2007.01.004.
- [292]CHAN, Chung-Hung, YUSOFF, Rozita, NGOH, Gek, Cheng. Modeling and Kinetics Study of Conventional and Assisted Batch Solvent Extraction. *Chemical Engineering Research and Design*. 2013, vol.92, n°6, pp. 1169–1186. DOI: 10.1016/j.cherd.2013.10.001.

- [293]TAO, Yang, ZHANG, Zhihang, SUN, Da, Wen. Kinetic Modeling of Ultrasound-assisted Extraction of Phenolic Compounds from Grape Marc: Influence of Acoustic Energy Density and Temperature. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2014, vol.21,n°4, pp. 1461–1469. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2014.01.029.
- [294]CASTILLO-SANTOS, K, RUIZ-LOPEZ, I, I, RODRÍGUEZ-JIMENES, G, C, CARRILLO-AHUMADA, J, GARCÍA-ALVARADO, M, A. Analysis of Mass Transfer Equations during Solid-liquid Extraction and Its Application for Vanilla Extraction *SEPARATION SCIENCE AND TECHNOLOGY* 13 Kinetics Modeling. *Journal of Food Engineering*.2017, vol.192, pp.36–44. DOI: 10.1016/j.socscimed.2017.09.008.
- [295]CHILEV, Chavdar, KOLEVA, Velichka, SIMEONOV, Evgeni. A New Empirical Model for Calculation the Effective Diffusion Coefficient for Solid-Liquid Extraction from Plants. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2014, vol.53, n°9, pp. 6288–6296. DOI: 10.1021/ie402473r.
- [296]SALMI, Tapio., GRÉNMAN, Henrik, WÄRNA, Johan, MURZIN, Dmitry, Yu. New Modeling Approach to Liquid-solid Reaction Kinetics: From Ideal Particles to Real Particles. *Chemical Engineering Research and Design*. 2013, 91, pp.1876–1889. DOI: 10.1016/j.cherd.2013.08.004.
- [297] TSIBRANSKA, Iren, TYLKOWSKIA, Bartosz, KOCHANOVA, Ruslan, ALIPIEVA, Kalina. Extraction of Biologically Active Compounds from *Sideritis Ssp. L.* *Food and Bioproducts Processing*. 2011, 89, 273–280. DOI: 10.1016/j.fbp.2010.10.004.
- [298]BUCIĆ-KOJIĆ, Ana, SOVOVA, Helena, PLANINIĆ, Mirela, SRECKO, Tomas. Temperature-dependent Kinetics of Grape Seed Phenolic Compounds Extraction: Experiment and Model. *Food Chemistry*. 2013, vol.136, n° 3-4, pp. 1136–1140. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.09.087.
- [299]SALMI, Tapio, RUSSO, Vincenzo, CARLETTI, Claudio, KILPIÖ, Teuvo, RICCARDO, Tesser, MURZIN, Dmitry, WESTERLUND, Tapio, GRÉNMAN, Henrik. Application of Film Theory on the Reactions of Solid Particles with Liquids: Shrinking Particles with Changing Liquid Films. *Chemical Engineering Science*. . 2017, 160, 161–170. DOI: 10.1016/j.ces.2016.11.026.
- [300]WANG, Yan, HERDEGEN, Volker, REPKE, Jens, Uwe. Numerical Study of Different Particle Size Distribution for Modeling of Solid-liquid Extraction in Randomly Packed Beds. *Separation and Purification Technology*. 2016, vol. 171,pp. 131–143. DOI: 10.1016/j.seppur.2016.07.013.
- [301]KRISHNAN, Radha, K, SIVARAJAN, M, BABUSKIN, S, ARCHANA, G, AZHAGU SARAVANA BABU, P, SUKUMAR, M. Kinetic Modeling of Spice Extraction from *S. Aromaticum* and *C. Cassia*. *Journal of Food Engineering*. 2013, vol.117, n°3, pp.326–332. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2013.03.011
- [302]ESPINOZA-PEÑEZ, J, D, VARGAS, A, ROBLES-OLVERA, Victor, José, RODRÍGUEZ-JIMENES, G, C, GARCÍA-ALVARADO, Adriana, M. Mathematical Modeling of Caffeine Kinetic

during Solid-liquid Extraction of Coffee Beans. *Journal of Food Engineering*. 2007, vol.81, n°1, pp. 72–78. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2006.10.011.

[303] REVERCHON, Ernesto, DONSI, Giorgio, OSSEO, Libero, Sesti. Modeling of Supercritical Fluid Extraction from Herbaceous Matrices. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 1993, vol.32, n°11, pp.2721-2726. DOI: 10.1021/ie00023a039.

[304] ROY, Bhupesh, C, GOTO, Motonobu, HIROSE, Tsutomu. Extraction of Ginger Oil with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and Modeling. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 1996, vol.35, n°2, pp.607-612. DOI: 10.1021/ie950357p.

[305] ALMEIDA, Rafael, N, NETO, Góes, Roberto, BARROS, Franciscoa, M, C, CASSEL, Eduardo, POSER, Gilsane, L-von, VARGAS, Rubem, M, F. Supercritical Extraction of Hypericum Caprifoliatum Using Carbondioxide and Ethanol + Water as Co-solvent. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 2013, vol.70, pp.95–102. DOI: 10.1016/j.cep.2013.05.002.

[306] ZERMANE, Ahmed, MENIAI, Abdeslam, Hassen, LARKECHE, Ouassila, BARTH, Danielle. Extraction and Modeling of Algerian Rosemary Essential Oil Using Supercritical CO₂: Effect of Pressure and Temperature. *Energy Procedia*. 2012, vol. 18, pp.1038–1046. DOI: 10.1016/j.egypro.2012.05.118

[307] YILDIRIM, Zeyneb, Elvan, ILIS, Gamze, Gediz, MOBEDI, Moghtada, ÜLKÜ, Semra. Effect of Isotherm Shape on Mass Transfer in an Adsorbent Particle; an Isothermal Adsorption Process. *The Open Transport Phenomena Journal*. 2011, vol.3, pp.40–48. DOI: 10.2174/1877729501103010040.

[308] KARIZAKI, Vahid, Mohammedpour. Kinetic Modeling and Determination of Mass Transfer Parameters during Cooking of Rice. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2016, vol.38, Part A, pp.131-138. DOI: 10.1016/j.ifset.2016.09.017.

[309] ADEOTI, Ibraheem, A, HAWBOLDT, Kelly. Experimental and Mass Transfer Modeling of Oil Extraction from Salmon Processing Waste Using SC-CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*. 2015, vol.104, pp. 160-170.

[310] MOSAVIAN, Mohammed, Taghi, Hamed, KARIZAKI, Vahid. Mohammadpour. Determination of Mass Transfer Parameters during Deep Fat Frying of Rice Crackers. *Rice Science*. 2012, vol.19, n°1, pp. 64–69. DOI: 10.1016/S1672-6308(12)60022-5

[311] CHAIKLAHAN, Ratana, CHIRASUWAN, Nattayaporn, TRIRATANA, Panya, TIA, Suvit, BUNNAG, Boosya. Effect of Extraction Temperature on the Diffusion Coefficient of Polysaccharides from Spirulina and the Optimal Separation Method. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2014, vol.19, pp.369–377. DOI: 10.1007/s12257-013-0733-2.

[312] COSTA, Moreira, Lilian, RESENDE, Osvaldo, GONÇALVES, Douglas. Nascimento, DE SOUZA, Kelly. Aparecida, DE FATIMA SALES, Juliana, RODRIGUES, Donadon, Juliana. The Influence of Drying on the Physiological Quality of Crambe Fruits. *Acta Scientiarum*. 2012, vol.34, n°2, pp. 213–218. DOI: 10.4025/actasciagron.v34i2.12482

- [313] AMMAR , Mohamed Yessin. Mise en œuvre de réseaux de neurones pour la modélisation de cinétiques réactionnelles en vue de la transposition batch/continu. Thèse de Doctorat : Génie des procédés et de l'Environnement. France : Institut national polytechnique de toulouse , 2007. 196 p
- [314]TOUZET, Claude. Les réseaux de neurones artificiels, introduction au connexionnisme : cours, exercices et travaux pratiques. EC2.France : Collection de l'EERIE, 1992, 127 p.
- [315] ZEMOURI, Ryad, DEVALLAND, Christine, VALMARY-DEGANO, Séverine, ZERHOUNI Nouredine. Intelligence artificielle : quel avenir en anatomie pathologique ?Annales de Pathologie. 2019, vol 39, n° 2, pp. 119-129.
- [316] TRUONG, Huong, May. Integrating learning styles and adaptive e-learning system: Current developments, problems and opportunities.Computers in Human Behavior.2016, vol 55, Part B, pp. 1185-1193.
- [317]LEMMOU Amira, BELLAKHDAR, Khaoukha, LEDJEDEL Adila. Identification et commande des systèmes non linéaires.Projet de fin d'étude : Génie électronique. Algérie : université de M'Sila , 2011.
- [318]JANOD, Killian .La représentation des documents par réseaux de neurones pour la compréhension de documents parlés : Application au cas de la classification thématique. Thèse de Doctorat : Informatique. France : Université D'avignon Et Des Pays De Vaucluse, 2017, 192 p.
- [319]KHATAEE , A, R, KASIRI , M, B. Artificial neural networks modeling of contaminated water treatment processes by homogeneous and heterogeneous nanocatalysis. Journal of Molecular Catalysis A- Chemical.2010, vol. 331, n° 1–2, pp. 86-100
- [320] RAKOTOMALALA, Ricco. Analyse de corrélation Étude des dépendances - Variables quantitatives. France : Université Lumière Lyon 2, 2017, 99p
- [321] AL SHAMISI, Maitha , H, ASSI , Ali , H, HEJASE, Hassan A, N. Using MATLAB to Develop Artificial Neural Network Models for Predicting Global Solar Radiation in Al Ain City – UAE. In: Dr. ASSI, Ali. Engineering Education and Research Using MATLAB. IntechOpen, 2011, pp 219-237. ISBN : 978-953-307-656-0.
- [322]ARNOLD , Ludovic, PAUGAM-MOISY , Hélène, SEBAG, Michèle . Optimisation de la Topologie pour les Réseaux de Neurones Profonds, 2010, Caen, France. 17e congrès francophone AFRIF-AFIA Reconnaissance des Formes et Intelligence Artificielle .RFIA, 2010.
- [323] MOULAY ABDERRAHIM, Ennaji. Analyse et conception d'un réseau de neurones formels pour le filtrage d'un signal dynamique.Mémoire de maîtrise : Sciences appliquées. Canada : Université du Québec à Chicoutimi, 1992. 216 p.
- [324]CHEMAT, Farid. Eco-extraction du végétal : Procédés innovants et solvants alternatifs. France : Technique et ingénierie, Dunod , 2014, 336p.
- [325] BENHAMIDA , Hichem. Les sources d'énergie renouvelables dans la production d'électricité : Les évolutions mondiales (2000-2010) et le cas de l'Algérie. Les cahiers du cread.2015, vol.31,n°113, pp.31-56.

- [326]GRIGORAS, Cristina-Gabriela.Valorisation des fruits et des sous-produits de l'industrie de transformation des fruits par extraction des composés bioactifs. Thèse de Doctorat : Sciences et Technologies. Roumanie : Université Vasile Alecsandri de Bacău,2012 , 247p.
- [327]PANAINTE, Mirela , NEDEFF, Valentin , SAVIN, Carmen , MOȘNEGUȚU, Emilian , MĂCĂRESCU, Bogdan. Determination of energy consumption at grinding through heating at different species and sorts of fruits with variable texture. UPB Scientific Bulletin, Series D.2007, vol. 69, n° 4, pp. 95-102 .
- [328]COUTURE, Isabel. Analyse d'eau pour fin d'irrigation. Québec :MAPAQ Montérégie-Est , 2003, 8 p.
- [329]RODIER, Jean, BAZIN, Céline, BROUTIN, Jean, Pierre, CHAMBON, Jean, Pierre , CHAMPSAUR, H, RODIER, L. L'Analyse de l'Eau : Eaux naturelles, Eaux résiduelles, Eaux de mer. Dunod : Paris, 1996, 1384 pp.
- [330]KAFI- BENYAHIA , Mounira. Variabilité spatiale des caractéristiques et des origines des polluants de temps de pluie dans le réseau d'assainissement unitaire parisien.Thèse de Doctorat : Sciences et techniques de l'environnement. France : Marne-la-vallée, ENPC, 2006.
- [331]DUC , Christophe., Suivi et optimisation du fonctionnement de la station de traitement des eaux usées de la Communauté de Communes des Trois Frontières. Mémoire de Fin d'Etudes : Génie de l'Eau et de l'Environnement . France : École Nationale du Génie de l'Eau et de l'Environnement de Strasbourg , 2009.84p.
- [332]GERALDINE , Dauvergne.Mise en place d'indicateurs de suivi et d'optimisation des stations d'épuration. Mémoire de fin d'étue : Eau potable et assainissement.France : École Nationale du Génie de l'Eau et de l'Environnement de Strasbourg 2007, 93p.
- [333]GARCIA-BERNET, Diana , DABOUSSI, Fayza. Bioraffinerie environnementale et les usages en cascade de la biomasse. Innovations Agronomiques.2016, vol. 54 , pp.75-88
- [334]VIS , M., U. MANTAU, B, Allen.Study on the optimised cascading use of wood. No 394/PP/ENT/RCH/14/7689. Final report. Brussels: EUROPEAN COMMISSION, 2016. 337 p.
- [335]SIRKIN, Ted, , HOUTEN, Maarten , Ten .The cascade chain: A theory and tool for achieving resource sustainability with applications for product design.Resources, Conservation and Recycling.1994, vol. 10, n° 3, pp. 213-276
- [33]HABERL, Helmut, GEISSLER, Susanne. Cascade utilization of biomass: Strategies for a more efficient use of a scarce resource.Ecological Engineering.2000, vol. 16, pp.111-121

ANNEXES

Annexe I : Composition chimique de l'inule visqueuse (travaux antérieurs)

Tableau I.1 : Quelques flavonoïdes de l'inule visqueuse

Composé	Auteurs	Année	Composé	Auteurs	Année
7-Méthyléther Naringénine (Sakuranétine)	Benayache et al. Wollenweber et al. Grande et al	1993 1991 1985	3-Méthyl quercétine	Benayache et al.	1993
7-O-méthyl aromadendrine	Benayache et al. Grande et al.	1993 1985	3-Méthoxyquercétine	Benayache et al.	1993
3 -O-acétyl taxifoline	Benayache et al.	1993	3-Méthoxy quercétine-7-Glucoside	Benayache et al.	1993
3-O-acétyl padmatine	Benayache et al.	1993	3-Méthyl éther quercétine	Benayache et al.	1993
A,7,4' Trihydroxyflavone (Apigénine)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991	7-Méthyl éther quercétine (Rhamnétine)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
6-Méthyl éther scrutellareine (Hispiduline)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991	3'-Méthyl éther quercétine (isoramnétine)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
5,7,3',4' Tétrahydroxyflavone (Lutéoline)	Benayache et al.	1993	3,3'-Diméthyl éther quercétine	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
6-Méthoxylutéoline (Népétine)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991	3,6-Diméthyl éther quercétagétine (Axillarine)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
5,7-Dihydroxy-6,3'-Diméthoxyflavone (Jacéosidine)	Benayache et al.	1993	6,3'-Dithyl éther quercétagétine (Spinacétine)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
5,4'-Dihydroxy-7-Méthoxyflavone (Genkivanine)	Benayache et al.	1993	Eriodictyol	Benayache et al.	1993
7-Méthyl éther kaempférol (Rhamnocitrine)	Benayache et al.	1993	7-Méthyl éther Eriodictyol	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
5,7,4'Trihydroxy-3-Ethoxyflavine	Benayache et al.	1993	3-Acétate aromadendrine	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
3,5,7-Trihydroxy-4'-Ethoxyflavine	Benayache et al.	1993	7-Méthyl éther aromadendrine	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavone (quercétine)	Benayache et al.	1993	3-Acétate taxifoline	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
5,7,3',4'-Tétrahydroxy-3-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993	7-Méthyl éther taxifoline	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
3-Glucosyl-5,7,3',4' -Tétrahydroxyflavone	Benayache et al.	1993	7-Méthyl éther-3-Acétate taxifoline	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
7-Glucosyl-3,5,3',4'-Tétrahydroxyflavone	Benayache et al.	1993	Aromadendrine (dihydrokaempférol)	Benayache et al.	1993
7-Glucosyl-5,3',4'-Trihydroxy-3-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993	Taxifoline (dihydroquercétine)	Benayache et al.	1993
5,7,4'-Trihydroxy-3,3'-Diméthoxyflavone	Benayache et al.	1993	luteolin	Wollenweber et al.	1991

Annexe I (Suite) : Composition chimique de l'inule visqueuse (travaux antérieurs)

Tableau I.1(Suite) : Quelques flavonoïdes de l'inule visqueuse

Composé	Auteurs	Année	Composé	Auteurs	Année
5,7,3',4'-Tétrahydroxy-3,6-Diméthoxyflavone	Benayache et al.	1993	kaempferol 7-methyl ether (rhamnocitrin):	Wollenweber et al.	1991
5,7,3',4'-Tétrahydroxy-6,3-Diméthoxyflavone	Benayache et al.	1993	(2R)(3R)-3,5,3',4'-Tétrahydroxy-7-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993
5,6,3',4'-Tétrahydroxy-3,7-Diméthoxyflavone	Benayache et al.	1993	(2R)(3R)-3-O-Acétoxy-5,3',4'-Trihydroxy-7-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993
7-Glucosyl-5,6,3',4'-Tétrahydroxy-3-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993	3-Méthyl éther kaempférol (isokaempféride)	Benayache et al. Wollenweber et al.	1993 1991
5,7,4'-Trihydroxy-3,3'-Diméthoxyflavone	Benayache et al.	1993	(2R)(3R)-3,5,4'-Trihydroxy-7-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993
(2S)-5,7,4'-Trihydroxyflavone (Naungénine)	Benayache et al.	1993	(2R)(3R)-3-O-Acétoxy-5,7,4'-Trihydroxyflavone	Benayache et al.	1993
(2S)-5,4'-Dihydroxy-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993	(2R)(3R)-3-O-Acétoxy-5,4'-Dihydroxy-7-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993
(2R)(3R)-5,7,3',4'-Tétrahydroxyflavone	Benayache et al.	1993	(2R)(3R)-3,5,7,3',4'-Pentahydroxyflavone	Benayache et al.	1993
(2R)(3R)-5,3',4'-Trihydroxy-7-Méthoxyflavone	Benayache et al.	1993			

Tableau I.2: Quelques acides sesquitérpniques de l'inule visqueuse.

Composé	Auteurs	Année
inuloxins A–D (1–4)	Andolfi et al.	2013
Acide costique A	Andolfi et al. Benayache et al.	2013 1993
2,3-didehydrocostic acid	Haoui et al. Fontana et al.	2011 2007
2,5-dihydroxyisocostic acid	Fontana et al.	2007
Fokienol	Haoui et al.	2011
1,3-dicaffeoylquinic acid	Danino et al.	2009
12-Carboxyeudesma-3,11(13)diène	Imad Eddine Haoui et al. Benayache et al. Shtacher et al.	2011 1993 1970
linolenic acid	Haoui et al.	2011
palmitic acid	Haoui et al.	2011
2-Déacétoxy-invisculide , Xanthinin	Benayache et al.	1993
Gérmacranolides	Benayache et al.	1993
Acide ilicique	Benayache et al.	1993
	Tebbaa et al.	2011
Acide 3 α -Hydroxycostique	Benayache et al. Barbetti et al.	1993 1985
Acide 3 α -Dydroxy-3,4-Dahydro 4,5-Dihydrocostique	Benayache et al.	1993

Tableau I.2(suite): Quelques acides sesquitérpeniques de l'inule visqueuse

Composé	Auteurs	Année
Acide isocostique A	Benayache et al.	1993
	Tebbaa et al.	2011
Acide illicique A	Benayache et al.	1993
	Herz et al.	1966
Acide viscique A	Benayache et al.	1993
Acide viscosique A	Benayache et al.	1993
Inuviscolide	Benayache et al.	1993
	Zdero et al.	1987
	Bohlmann et al.	1977
eudesmane acids 4 and 5	Sanz et al.	1991
2 α -hydroxy-3,4-dehydro-4,15dihydrocostic acid (4a)	Barbetti et al.	1985
germacranolides	Bohmann et al.	1982
2-deacetyl-xanthuminol (4H-tomentosin) (7)	Bohlmann et al.	1978
	Bohlmann et al.	1977
2-(4a,8-dimethyl-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydronaphthalen-2-yl	Tebbaa et al. Daran et al.	2010

Tableau I.3 : Quelques tritèrènes esters de l'inule visqueuse.

Composé	Auteurs	Année
Acétate de dammaradiényl	Benayache et al.	1993
	Okstiz et al.	1977
Acétate de taraxastéryle	Benayache et al.	1993
	Okstiz et al.	1977
Acétate de pseudataraxastérite	Benayache et al.	1993
Fridelin	Benayache et al.	1993
3-Epifridelinol	Benayache et al.	1993
20(29)Lupène-3,16, β -diol	Benayache et al.	1993
3 β -monoacétate de tritèrène diol	Benayache et al.	1993
Ψ -Acétate de taraxastérole	Benayache et al.	1993
3,16-Dohydroxylupéol 3 Palmitate	Benayache et al.	1993
3,16-Dihydroxylupéol 3-Myristate	Benayache et al.	1993
Estères de l' α -Amyrine	Benayache et al.	1993
Isobutyrate de 3-Méthoxy-para-cymène-7yle	Benayache et al.	1993
Isovalérate du 3-Méthoxy-para-cymène-7yle	Benayache et al.	1993
Nérolidol	Benayache et al.	1993
	Okstiz et al.	1977
9-hydroxynerolidol 1-3	Sanz et al.	1991
eudesma-3,11(13)-diene-12-oicacid	Bohlmann et al.	1988
3-methoxy-p-cymene-7-yl isobutyrate and isovalerate	Shtacher et al.	1971

Annexe II : Préparation des courbes d'étalonnage

Tableau II.1 : Préparation de la courbe d'étalonnage de l'Acide Gallique

N° tube	Concentration (µg/mL)	Erreur (%) ±	Absorbance (Abs) 765 nm			Moyenne des trois lectures	Erreur (%) ±	Moyenne globale	Erreur moyenne (%) ±
			lecture 1	Lecture 2	Lecture 3				
BLANC (1)	0	0	0,086	0,088	0,085	0,086	0,002	0,098	0,003
BLANC (2)			0,113	0,11	0,106	0,110	0,004		
AG1(1)	20	0,025	0,281	0,278	0,278	0,279	0,003	0,275	0,003
AG1(2)			0,272	0,269	0,27	0,270	0,002		
AG2(1)	40	0,031	0,459	0,456	0,455	0,457	0,003	0,456	0,003
AG2(2)			0,458	0,456	0,454	0,456	0,003		
AG3(1)	60	0,043	0,671	0,668	0,667	0,669	0,003	0,654	0,003
AG3(2)			0,641	0,638	0,636	0,638	0,003		
AG4(1)	80	0,04	0,902	0,899	0,898	0,900	0,003	0,883	0,003
AG4(2)			0,867	0,865	0,864	0,865	0,002		
AG5(1)	120	0,039	1,201	1,197	1,195	1,198	0,004	1,208	0,004
AG5(2)			1,222	1,219	1,216	1,219	0,004		

Tableau II.2 : Préparation de la courbe d'étalonnage de la quercétine

N° tube	Concentration (µg/mL)	Erreur (%) ±	Absorbance (Abs) 430 nm			Moyenne des trois lectures	Erreur (%) ±	Moyenne globale	Erreur moyenne (%) ±
			lecture 1	Lecture 2	Lecture 3				
BLANC (1)	0	0	0,0028	0,0031	0,0027	0,0028	0,0002	0,0028	0,0002
BLANC (2)			0,0027	0,0028	0,0029	0,0028	0,0001		
Q1(1)	10	0,023	0,3528	0,3400	0,3545	0,3528	0,0003	0,3525	0,0004
Q1(2)			0,3467	0,3651	0,3521	0,3521	0,0004		
Q2(1)	20	0,032	0,7028	0,7103	0,7035	0,7035	0,0005	0,7022	0,0006
Q2(2)			0,7010	0,7005	0,7008	0,7008	0,0006		
Q3(1)	30	0,030	1,0528	1,0572	1,0544	1,0544	0,0008	1,0530	0,0009
Q3(2)			1,0510	1,0517	1,0521	1,0517	0,0009		
Q4(1)	40	0,035	1,4028	1,4034	1,4034	1,4034	0,0015	1,4027	0,0014
Q4(2)			1,4025	1,4011	1,4019	1,4019	0,0012		
Q5(1)	50	0,040	1,7528	1,7519	1,7523	1,7523	0,0023	1,526	0,0024
Q5(2)			1,7529	1,7531	1,7498	1,7529	0,0025		

NB :

AGi : Solution d'acide gallique n° i

Qi : Solution de quercétine n° i

Annexe III. Application de la chimie verte à l'extraction des substrats naturels

Chimie verte [1]

Concept défini en 1998 par P. Anastas et J. C. Warner (EPA – Environmental Protection Agency) : Concevoir des produits et des procédés de synthèse permettant de réduire ou d'éliminer l'utilisation et la génération de substances dangereuses

Ecoextraction [2]

En janvier 2010, plus de 60 chercheurs et professionnels travaillant dans le domaine de l'extraction des produits naturels se sont réunis à Grasse, sous l'impulsion de (France Eco-Extraction), pour définir l'éco-extraction et ses principes. Une définition très générale a été adoptée : l'éco-extraction est basée sur la découverte et la conception de procédés d'extraction permettant de réduire la consommation énergétique, mais aussi l'utilisation de solvants alternatifs et des ressources végétales renouvelables, tout en garantissant un produit/extrait sûr et de qualité).

Solvants verts

L'idée de « solvants verts » exprime l'objectif de réduire au minimum l'impact sur l'environnement résultant de l'utilisation de solvants traditionnels. Récemment, quatre directions vers des solvants verts ont été développées :

- ✓ La substitution de solvants dangereux avec ceux qui montrent de meilleures propriétés EHS (environnement, santé et sécurité) [3],
- ✓ L'utilisation de « bio-solvants » [4],
- ✓ Substitution des solvants organiques, avec des fluides supercritiques [5,6],
- ✓ Substitution des solvants organiques avec les liquides ioniques qui montrent de faible pression de vapeur, et donc moins d'émissions dans l'air [7, 8].

Méthodes d'évaluation des solvants [8]

Il est souvent difficile de définir un solvant comme étant « vert » dans l'absolu ; il s'agit plutôt de le considérer dans une application et un contexte donné. Ci-dessous trois méthodes d'évaluation des solvants qui couvrent les principaux aspects de la performance environnementale des solvants dans la production chimique et comprennent également les questions de santé et de sécurité.

Le procédé d'évaluation EHS visant à identifier les dangers potentiels des produits chimiques [9]

Dans la méthode EHS simplifiée, trois catégories de dangers sont définis, chaque catégorie regroupe trois dangers potentiels :

- Sécurité : Emissions potentiels – Explosions- Réactions/décompositions
- Santé : Toxicité (aiguë et chronique)- irritation
- Environnement : (persistance –air –eau)

Pour chaque catégorie d'effet, un indice entre zéro et un est calculé, ce qui entraîne un score global entre zéro et neuf pour chaque produit chimique. Plus l'indice EHS est élevé, moins le solvant est vert.

La méthode d'évaluation du cycle de vie (ACV) [10]

Utilisée pour une évaluation détaillée de l'impact environnemental de la production et de l'utilisation d'un produit chimique en considérant toutes les étapes de la vie du produit : la provenance des réactifs, la synthèse et l'utilisation de substances auxiliaires, le transport, l'utilisation ainsi que le devenir dans l'environnement. C'est un travail complexe et coûteux. et selon les composés chimiques étudiés, les informations peuvent être insuffisantes conduisant à des résultats parfois contradictoires. Cependant, en ce qui concerne les solvants - étant omniprésents en synthèse - les informations sont nombreuses pour que des analyses ACV soient réalisables et

fiables. La méthode d'évaluation de l'impact du cycle de vie (ACV), définie la demande cumulative d'énergie (Cumulative energy demand : CED) qui prend en compte l'énergie de production et de recyclage du solvant tout en long de son cycle de vie. Le recyclage se fait par distillation ou incinération. Plus la demande cumulative d'énergie est élevée, moins le solvant est vert.

Traffic light de Pfizer

Un autre outil simple d'utilisation est le système dit « **traffic light** » de Pfizer [11]

Tableau III.1: Classement « traffic light » de Pfizer

Préférables (verts)	Utilisables (orange)	Indésirable (rouge)
Eau	Cyclohexane	Pentane
Acétone	Heptane	Hexane(s)
Ethanol	Toluène	Ether diisopropylique
2-Propanol	Méthylcyclohexane	Ether diéthylique
1-Propanol	Méthyl t-butyl éther	Dichlorométhane
Acétate d'éthyle	Isooctane	1,2-Dichloroéthane
Acétate d'isopropyle	Acétonitrile	N,N-Diméthylformamide
Méthanol	2-Méthyl-THF	N-Méthylpyrrolidin-2-one
Méthyl éthyl cétone	Tétrahydrofurane	Pyridine
1-Butanol	Xylènes	Diméthyl acetate
t-Butanol	Diméthyl sulfoxyde	1,4-Dioxane
	Acide acétique	1,2-Diméthoxyéthane
	Ethylène glycol	Benzène
		Tétrachlorométhane

Cette classification des solvants fut établie en appliquant des résultats similaires à ceux du système EHS à tous les solvants communément employés dans l'industrie pharmaceutique. Dans ce système, les solvants verts sont considérés comme ceux de moindre impact environnemental et sont préférables aux solvants oranges. Les solvants rouges sont ceux qui posent le plus de soucis d'ordre sanitaire et écologiques et doivent être évités.

Références annexe III

- [1] ANASTAS, Paul, EGHBALLI, Nicolas. Green Chemistry: Principles and Practice. Chemical Society Reviews. 2010, vol.39, pp.301-312
- [2] CHEMAT, Farid. Eco-extraction du végétal : Procédés innovants et solvants alternatifs. France : Technique et ingénierie, Dunod, 2014, 336p.
- [3] CURZONS, Alan.D, CONSTABLE, David.C., CUNNINGHAM, Virginia.L. Solvent Selection Guide: A Guide to the Integration of Environmental, Health and Safety Criteria into the selection of solvents, Clean Products and Processes. 1999, vol.1, pp.82-90.
- [4] TOMASKO, David., LI, Hongbo., LIU, Dehua., HAN, Xiangmin, Wingert, Maxwell, J, LEE, James, L., KOELLING, Kurt, W. 2003. A Review of CO₂ Applications in the Processing of Polymers. Industrial & Engineering Chemistry Research. 2003, vol.42, n°25, pp. 6431-6456. [5] NOYORI, Royoji. Supercritical Fluids: Introduction, Chemical Reviews. 1999, vol.99, n°2, pp.353-354
- [6] LEVEQUE, Jean-Marc, CRAVOTTO, Giancarlo. Microwaves Power Ultrasound, and Ionic Liquids. A New Synergy in Green Organic Synthesis. CHIMIA International Journal for Chemistry. 2006, vol.60, n°6, pp. 313-320.
- [7] SCAMMELLS, Peter, John., SCOTT, Janet, L., SINGER, Robert, D. 2005. Ionic Liquids: The Neglected Issues. Australian Journal of Chemistry. 2005, vol.58, n°3, pp. 155-169.
- [8] CAPELLO, Christian., FISCHER, Ulrich. HUNGERBUHLER, Konrad. What is a green solvent? A comprehensive framework for the environmental assessment of solvents. Green Chemistry. 2007, vol.9, pp.927-934
- [9] KOLLER, Guntram, FISCHER, Ulrich. HUNGERBUHLER, Konrad. Assessing Safety, Health, and Environmental Impact during Process Development. Industrial & Engineering Chemistry Research. 2000, vol.39, n°4, pp. 960-972.
- [10] Environmental management - Life cycle assessment – Principles and framework, EN ISO 14040, European Committee for Standardisation, Brussels, Belgium, 1997.
- [11] BACLE, Pauline. Solvants et chimie verte 1/3 : Les solvants en chimie organique. Nicolas Lévy (Ed) : l'institut de minéralogie, de physique des matériaux et de cosmochimie de Sorbonne Université, 2012, 6p.

Annexe IV. Evaluation de l'impact des aspects environnementaux (Grigoraş et al , 2012)

Les aspects environnementaux sont soumis à une hiérarchisation en fonction de la signification de l'impact. Les critères utilisés pour son calcul sont reportés ci-dessus :

Dispositions législatives et de réglementation (R) : notes de 1 à 10 pour les situations suivantes :

- ✓ Dispositions législatives et de réglementation strictement précisées : 10 points
- ✓ Sollicitations évidentes des clients et/ou de la communauté locale : 8 points
- ✓ Impositions internes pour la résolution des intérêts particuliers : 6 points
- ✓ Sollicitations du personnel de la société : 4 points
- ✓ Absence de dispositions : 2 points.

Evaluation de niveau du risque (Nr) : on considère les facteurs suivants :

- ✓ Probabilité d'apparition (A) : plus elle est importante plus le risque est élevé
- ✓ Probabilité de détection (B) : plus la capacité de détection diminue moins le contrôle est probable et donc le niveau de risque augmente
- ✓ L'importance des conséquences (C) : plus les dommages produits par la pollution sont importants plus le facteur de risque est élevé.

L'évaluation du niveau de risque se réalise à l'aide d'un système numérique conduisant à un total conformément au Tableau IV.1

Tableau IV.1. Evaluation du niveau de risque :

Probabilité d'apparition (A)	Probabilité de détection (B)	Sévérité des conséquences (C)	Niveau du risque Nr = (A + B) x C
Très fréquente - 5 points	Très grande - 1 point	Très élevée - 10 points	60
Fréquente - 4 points	Grande - 2 points	Elevée - 8 points	48
Modérée - 3 points	Modérée - 3 points	Modérée - 6 points	36
Basse - 2 points	Basse - 4 points	Basse - 4 points	24
Très basse - 1 point	Très basse - 5 points	Très basse - 2 points	12

Implications des aspects de santé (S) : notes de 1 à 10 pour les situations suivantes :

- ✓ Provoque la mort : 10 points
- ✓ Provoque des conséquences graves sur les organismes : 8 points
- ✓ Provoque des irritations, des difficultés de respiration : 6 points
- ✓ Conduit à de l'inconfort, à la réduction de la capacité de travail : 4 points
- ✓ Non significatives : 2 points.

Implications écologiques sur l'environnement (E) : notes de 1 à 10 en fonction de l'aire de pollution

- ✓ Niveau global : 10 points
- ✓ Niveau régional : 8 points
- ✓ Niveau local : 6 points
- ✓ Voisinage : 4 points
- ✓ Espace de la société : 2 points.

Annexe IV. (Suite) Evaluation de l'impact des aspects environnementaux (Grigoraş et al , 2012)

Problèmes de la communauté et du milieu local (P) : au moment de l'établissement des aspects environnementaux, les éléments relatifs à la communauté et au milieu local sont aussi à considérer en accordant des notes de 1 à 75 :

Bruit :

- ✓ Absence – 0 point
- ✓ Près de l'entreprise – 5 points
- ✓ A l'intérieur de la société – 15 points
- ✓ Voisinage – 25 points ;

Aspect du paysage :

- ✓ Agréable – 0 point
- ✓ Désagréable à l'intérieur de la société – 5 points
- ✓ Perturbant pour les voisins – 25 points

Réclamations :

- ✓ Absence – 0 point ;
- ✓ Du personnel de la société – 5 points
- ✓ Des voisins, bénéficiaires – 15 points
- ✓ Des organismes de contrôle et administratives – 25 points