

République Algérienne *D*émocratique et *P*opulaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la *R*echerche *S*cientifique



Université Abderrahmane *M*IRA de *B*ejaia
Faculté des *S*ciences de la *N*ature et de la *V*ie
Département de *B*iochimie Appliquée



Mémoire de fin de cycle

En vue de l'obtention du Diplôme MASTER

Pharmacologie moléculaire

Thème

**Etude comparative de trois techniques de séchage
(étuve, microonde et air libre) des feuilles de
laurier en terme de qualité phytochimique et
minérale**

Présenté par : M^{me} HARDOU - BENBOUABDELLAH Lydia

Soutenu le 09/ 06 / 2014

Membres du jury :

M ^{me} BOULEKBACHE L.	Maître de conférences A. (UAM de Bejaïa)	Présidente
Mr. MADANI K.	Professeur (UAM de Bejaia)	Promoteur
Mr. DAHMOUNE F.	Docteur (UAM de Bejaia)	Co-Promoteur
Mr. OUCHMOUKH S.	Maître de conférences A. (UAM de Bejaia)	Examineur
M ^{elle} BRAHMI F.	Maitre-assistant A. (UAM de Bejaïa)	Examinatrice
Mr. DAIRI S.	Docteur (UAM de Bejaia)	Invité

Promotion 2013/2014

Dédicaces

*À la mémoire de mon Papa, l'homme à la valeur inestimable, tu
étais tellement bien instruit que tu aurais été si fier de moi
aujourd'hui, je t'aime si fort mon papa.*

À ma Maman et à mon très cher grand frère Djamel :

*Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon estime, ma
fierté, vous avez toujours été ma source de tendresse d'amour et
l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager. Ce
travail est le fruit de vos sacrifices que vous avez consentis pour mon
éducation, avenir et formation.*

*À mon très cher mari Samir que je ne remercierais jamais assez
pour m'avoir soutenu, encouragé et cru en moi dans les bons
moments comme les plus difficiles, d'être près de moi jours comme
nuits et qui m'a soutenu jusqu'à la dernière minute.*

*À mon beau père Saad et mon grand-père Messaoud qui ont
cru en moi et à ma belle mère.*

*À mes Frères et leurs Epouses, À mes sœurs que j'aime fort en
témoignage de leur soutien moral et encouragement permanents.*

À ma belle-famille que j'apprécie énormément.

À tous ce qui me sont chers.

Lydia.

Remerciement

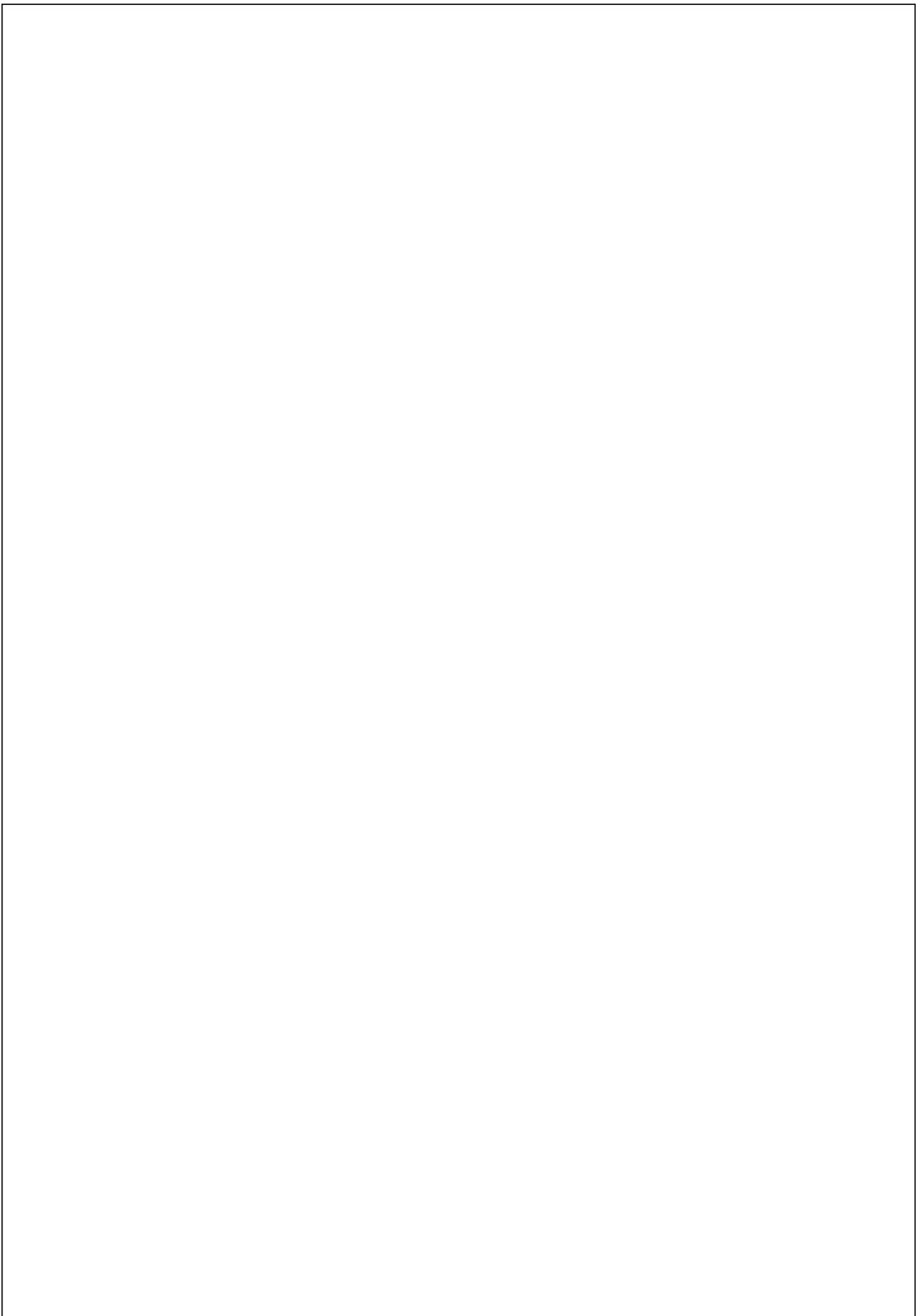
Avant tout, je tiens à remercier le Dieu tout puissant qui m'a accordé santé et courage pour réaliser ce travail.

Mes remerciements les plus sincères et les plus chaleureux s'adressent en premier lieu à Monsieur Madani K, qui m'a honoré en acceptant d'être mon promoteur, pour ces conseils et pour ces diverses orientations.

Mes profonds respects vont au président du jury Mme Boulekbache L pour l'honneur qu'elle m'a fait en président mon jury.

Je remercie également Mlle Brahmi F, et Mr Ouchmoukhe S, d'avoir accepté d'examiner cette étude.

Je remercie également Mr Dahmoune F, Mr Dairi S, Mr Remini, Mme Baoudia et Mme Oukmanou pour leurs précieuses aide, leurs conseils, qu'ils puissent trouver ici mes plus profondes gratitude.



Liste des figures

Figure 1 : Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i>	4
Figure 2 : Structure de base des composés phénoliques.....	7
Figure 3 : Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique	9
Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.....	10
Figure 5 : Structure de quelques classes de flavonoïdes.....	11
Figure 6 : Structure générale des anthocyanes.....	12
Figure 7 : Structure moléculaire de base des tanins condensés	13
Figure 8 : Structure moléculaire de base des tanins hydrolysable acide gallique (A) et ellagique (B)	14
Figure 9 : Mouvement d'un dipôle dans un champ électrique.....	22
Figure 10 : Carte géographique de la région de Bejaia.....	24
Figure 11 : Photographie du micro-onde (1) ; Etuve(2).....	26
Figure 12 : Photographie de Broyeur (1), Tamiseuse (2).....	26
Figure 13 : Poudre de <i>Laurus nobilis</i>	27
Figure 14 : Prototype utilisé pour l'extraction assistée par microondes.....	28
Figure 15 : Réaction d'une structure polyphénolique avec le radical DPPH°.....	32
Figure 16 : Cinétique de séchage conventionnelle des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	34
Figure 17 : Temps optimal de séchage par étuve à différentes températures.....	35
Figure 18 : Cinétique de séchage microonde des feuilles de <i>laurus nobilis</i>	36
Figure 19 : Temps optimal de séchage par étuve à différentes puissances.....	37
Figure 20 : Teneurs moyennes en polyphénols totaux des extraits des feuilles de <i>Laurus nobilis</i> obtenues par séchage air libre et étuve et microondes.....	39
Figure 21 : Teneurs moyennes en flavonoïdes des échantillons séchés à l'étuve aux microondes des feuilles <i>Laurus nobilis</i>	42

Figure 22: Teneurs moyennes en tanins des échantillons de feuilles séchées à l'air libre, à l'étuve et aux microondes.....	43
Figure 23 : Teneurs moyennes des différents minéraux présents dans les poudres séchées à l'étuve à 120°C.....	46
Figure 24 : Teneurs moyennes des différents minéraux présents dans les poudres séchées par microondes à 900W.....	47
Figure 25 : Teneurs moyenne des différents minéraux présents dans les poudres séchées à l'air libre.....	48
Figure 26 : Activité antiradicalaire au DPPH° des extraits de feuilles de <i>Laurus nobilis</i> obtenues par séchage conventionnel et aux microondes	49
Figure 27 : Pouvoir antioxydant des extraits obtenus par séchage conventionnel (A) et microonde (B) évalué par le test à ABTS.....	52

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de <i>Laurus nobilis</i> L.....	5
Tableau II : Teneurs des composés phénoliques de <i>Laurus nobilis</i> L.....	6
Tableau III : Activités biologiques des composés polyphénoliques.....	15
Tableau IV : Situation géographique.....	24
Tableau V : Taux d'humidité et activité de l'eau.....	38
Tableau VI : Teneurs moyenne en polyphénols totaux.....	40
Tableau VII : Teneurs moyennes en PPT obtenu par analyse spectrale.....	41
Tableau VIII : Teneurs moyennes en Chlorophylle A, B et Caroténoïdes des extraits	44
Tableau IX : Activité réductrice au ferrocyanure de potassium des extraits obtenus par séchage conventionnel et microondes de <i>Laurus nobilis</i>	51

Liste des abréviations

Abs: Absorbance.

ABTS: 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid

ANOVA: Analysis de la Variance.

ESAM: Extraction assistée par microonde.

Conc : Concentration.

Conv : Conventionnel.

D: Dilution.

DPPH°: 2,2-diphényl-1-pecrylhydrazyle.

DRX : diffraction par rayons X.

E.A.G: Equivalent Acide Gallique.

E.Q: Equivalent catéchine.

E.R: Equivalent Rutine.

Extra: Extraction.

MS: Matière Sèche.

OMS: Organisation Mondiale de la Santé.

PPT: Polyphénols Totaux.

UA : Unité Arbitraire.

Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations

Sommaire

Introduction.....01

Partie I : Synthèse bibliographique

Chapitre I : *Laurus nobilis*

I.1. Etude botanique de *Laurus nobilis*.....03

I.2. Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis*.....05

I.3. Travaux antérieurs.....05

Chapitre II : Substances bioactives des plantes médicinales

II.1. Composés phénoliques.....07

II.2. Biosynthèse des composés phénoliques (ou polyphénols).....08

II.3. Classification des composés phénoliques.....08

II. 3.1. Acides phénoliques.....08

II. 3.2. flavonoïdes.....10

II. 3.3. Anthocyanes.....11

II. 3.4. Tanins12

II.4. Effets biologiques des polyphénols.....14

II.5.Rôle des polyphénols dans la plante.....15

II.6. Mécanisme général d'action des antioxydants phénoliques.....16

Chapitre III : Méthodes de séchage et d'extraction

III.1. Définition.....18

III.2. Objectif.....18

III.3 Principe du séchage.....19

III.4. Méthodes de séchage.....20

III.4.1. Séchage par entraînement.....20

III.4.2. Séchage par ébullition.....20

III.4.3. Séchage à l'air libre.....20

III.4.4. Séchage par microondes.....21

III.4.4.1. Définition.....	21
III.4.4.2. Mécanisme de séchage par microondes.....	21
III.4.5. Séchage à étuve.....	23

Partie expérimentale

Chapitre I: Matériel et méthodes

I.1. Collecte du matériel végétal.....	24
I.2. Traitement des échantillons.....	25
I.2.1. Taux d'humidité.....	25
I.2.2. Cinétique de séchage.....	25
I.2.3. Broyage et tamisage.....	26
I.3. Extraction par micro-ondes.....	27
I.4. Dosage des polyphénols totaux.....	28
I.5. Indice des polyphénols.....	29
I.6. Dosages des flavonoïdes totaux	29
I.7. Dosage des tannins condensés.....	30
I.8. Dosage de la chlorophylle A, B, et Caroténoïdes.....	30
I.9. Caractérisation des minéraux.....	31
I.10. Activité antioxydante.....	31
I.10.1. Test au radical DPPH°.....	31
I.10.2. Pouvoir réducteur.....	32
I.10.3. Test à l'ABTS.....	33
I.11. Analyse statistique.....	33

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Traitement des échantillons.....	34
II.1.1. Cinétique de séchage.....	34
II.1.2. Cinétique de séchage innovante assistée par micro-onde des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	36
II.2. Détermination de l'humidité et l'activité de l'eau (Aw).....	38

II.3. Teneurs en composés phénoliques.....	38
II.4. Flavonoïdes.....	41
II.5. Tanins condensés	43
II.6. Chlorophylle A, B et caroténoïdes.....	44
II.7. Caractérisation des minéraux.....	46
II.8. Evaluation de l'activité antioxydante.....	49
Conclusion	54
Références bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Depuis la nuit des temps, l'Homme a toujours cherché à se servir des plantes pour s'alimenter d'abord mais aussi pour se soigner de toutes sortes de maladies. Actuellement, l'organisation mondiale de la santé (OMS) estime qu'environ 80 % de la population ont recours aux préparations traditionnelles à base de plantes en tant que soins de santé primaire (**Lhuillier, 2007**).

La phytothérapie constitue une alternative ou tout au moins un complément appréciable à la pharmacie classique issue de la chimie moderne et de nombreux remèdes prescrits des principes actifs d'origine naturelle (**Lhuillier, 2007**).

Les recherches modernes ne font que redécouvrir ce savoir acquis au cours des siècles. En effet, de nombreux travaux ont pu démontrer l'activité et les modes d'action thérapeutiques des plantes médicinales (**Schawenberg et Ferdinand, 1977; Bézanger-Beauquesne, 1996**).

Les substances naturelles issues des végétaux ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie (alimentation et cosmétologie). Parmi ces composés figurent dans une grande mesure les métabolites secondaires tels que les polyphénols végétaux qui sont largement utilisés en thérapeutique comme vasculoprotecteurs, anti-inflammatoires, inhibiteurs enzymatiques et antioxydants (**Bahorun, 1997**).

Ces substances présentes dans toutes les parties des végétaux supérieurs (racines, tiges, feuilles, fleurs, pollens, fruits, graines et bois) et sont impliquées dans de nombreux processus physiologiques comme la croissance cellulaire, la germination des graines ou la maturation des fruits. Les plus représentés sont les anthocyanes, les flavonoïdes et les tannins (**Boizot et Charpentier, 2006**).

La matière végétale peut contenir un degré variable d'humidité et elle exige toujours un prétraitement avant l'extraction de ses substances d'intérêt. En outre, autant que les plantes sont employées sous la forme sèche par les guérisseurs traditionnels et en raison des différences dans les teneurs en eau dans les différents tissus végétaux (**Catherine et al., 2008**).

Par conséquent, l'étape de séchage constitue une étape importante dans l'analyse et l'identification des molécules bioactives. Son but principale est de prolonger la durée de conservation des produits, et d'inhiber l'activité des microorganismes, des enzymes ou des ferments de la matière (**Alibas, 2007 ; Maskan, 2001**), ainsi pour la stabilisation des produits.

Parmi les plantes médicinales, *laurus nobilis* est une plante qui est étudiée par de nombreux chercheurs portant sur sa constitution phytochimique (Iserin, 2001) et ses vertus thérapeutiques à savoir le traitement symptomatique, troubles de l'appareil digestif supérieur tel que le ballonnement épigastrique et la lenteur de la digestion. Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'antihémorroïdal, antirhumatismal et diurétique. Elle est aussi employée comme un antidote dans les morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002).

Le présent mémoire a pour but d'étudier pour la première fois la comparaison entre les différents mode de séchage des feuilles de *Laurus nobilis* à savoir : le séchage conventionnel (à l'air libre et à l'étuve : 40, 60, 80, 100 et 120 °C) et le séchage innovant qui est le séchage microonde (180, 300, 450, 600 et 900 W) et leurs impact sur bioactivité des extraits obtenus. Afin de déterminer l'efficacité de chaque type de séchage, différents paramètres ont été évalués :

- ✓ La composition phytochimique (teneur en polyphenols totaux (PPT), flavonoides, tannins, chlorophylle et caroténoïdes) ;
 - ✓ Evaluation de l'activité antioxydante : Test au radical DPPH°, ABTS et pouvoir réducteur ;
 - ✓ Caractérisation de la matière minérale.
- La première partie est une étude bibliographique qui est subdivisée en trois chapitres :
- Le premier chapitre comporte des généralités sur *Laurus nobilis*;
 - Le deuxième chapitre porte sur les substances bioactives des plantes médicinales ;
 - Le dernier chapitre porte sur les techniques de séchage ;
- La seconde partie est une partie pratique qui rassemble deux chapitres :
- Le premier décrit le matériel végétal et les méthodes utilisées ;
 - Le deuxième chapitre résume les résultats et discussion.
- Nous terminerons par une conclusion et les perspectives à venir.

Partie I
Synthèse bibliographique

I. *Laurus nobilis*

L'Homme, depuis l'antiquité, utilise des plantes pour se soigner sans qu'il recherchait à savoir pourquoi ou comment elles agissaient (**Schauenbeg et Paris, 1977**).

Environ 250 000 à 500 000 espèces de plantes ont été répertoriées dans le monde, un pourcentage faible (1 à 10%) est utilisé comme nourriture pour l'Homme et les autres espèces animales alors qu'un taux plus élevé est utilisé pour des besoins médicaux (**Cowan, 1999**). L'OMS estime que 80% de la population se soigne par la médecine traditionnelle (**Khalil et al., 2007**).

La plante médicinale se définit comme « toute plante renfermant un ou plusieurs principes actifs capables de prévenir, de soulager ou de guérir certaines maladies » (**Schauenberg et Paris, 1977; Encyclopédie des plantes médicinales, 2001**).

I.1 Etude botanique de *Laurus nobilis*

- **Famille des lauracées :**

Laurus nobilis L., membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antique grec et romain (**Demir et al., 2004**). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**Ferreira et al., 2006**).

- **Origine et distribution de la plante :**

Originnaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (**Iserin, 2001**). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les Etats-Unis Méridionaux (**Demir et al., 2004; Barla et al., 2007**).

- **Description botanique de la plante**

Laurus nobilis, Arbuste ou arbre aromatique de 2 à 10m de haut à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut. Ses feuilles sont alternés, coriaces, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large, persistantes d'un vert foncé et glacé sur leur face supérieure et plus pale en dessous. Les fleurs sont dioïques (petites fleurs mâles et femelles sur des pieds séparés), jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles. Le fruit est une petite bai ovoïde de 2cm de longueur sur 1cm de largeur, noir vernissé à maturité (Figure 1) (Iserin, 2001 ; Demir et *al.*, 2004 ; Beloued, 2005).



Figure 1 : Aspect morphologique de *Laurus nobilis* L.

- **Place dans la systématique**

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Quezel et Santa, 1962) synthétisée dans le tableau

Tableau I : Classification botanique de *Laurus nobilis* L. (Quezel et santa, 1962)

Règne	Plantes
Sous règne	Plantes vasculaire
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous classe	Dialypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L

I.2 Utilisation des feuilles de *Laurus nobilis*

Cette plante actuellement génère un réel intérêt quant à son utilisation comme plante médicinale. Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce,...) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un sujet de recherche scientifique intéressant (Sinic et al., 2003). Le laurier est principalement utilisé, par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique, lenteur de la digestion (Iserin, 2001). L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu'anti hémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (Kivçak et Mert, 2002).

I.3 Travaux antérieurs

Nous prenons, ci-dessous, les principaux travaux relatifs à l'étude des composés phénoliques de *Laurus nobilis* ;

- (Ferreira et al., 2006) ont étudié l'activité antioxydante de trois extraits (huile essentielle, extrait éthanolique et décoction) de dix espèces de plantes médicinales dont *Laurus nobilis*, cette espèce a montré des valeurs élevées pour l'activité antioxydante pour chacun des trois extraits et elle est plus haute pour les extraits polaires.

- Dans une autre étude, (**Demo et al., 1998**) ont démontré la présence des tocophérols (vitamine E), dans les feuilles de *Laurus nobilis* obtenue dans la fraction apolaire par extraction. Dans cette étude on rapporte que le contenu tocophérol est strictement corrélé avec l'activité antioxydante de l'extrait hexane des feuilles.
- L'huile essentielle des feuilles de *Laurus nobilis* a été évaluée pour l'activité anticonvulsive contre des saisies expérimentales, l'huile a protégé des souris contre des convulsions toniques, induites par électrochoc maximal. Aux doses d'anticonvulsivant, l'huile essentielle a produit la sédation et le relâchement du cœur. Les composants responsables de cet effet peuvent être le cinéol, eugénol et le méthyle eugénol mais d'autres études sont exigées avant que toutes conclusions puissent être tirées (**Sayyah et al., 2002**).

Selon les travaux de **Mojca skerget, et al., (2005)** la composition phénolique de *Laurus nobilis* ainsi que leurs teneurs sont comme suit :

Tableau II : Teneurs des composés phénoliques de *Laurus nobilis* L. (**Mojca skerget, et al., 2005**)

Composés phénoliques	Teneurs
PPT	99,4 g /Kg
Flavonoides	80,1 g/Kg
Tanins condensés	29,9 g/Kg
Quercetin	31,90 mg/Kg
Tocopherol	48,22 mg/Kg

Cependant, l'étude mené par **Yakhlef1 et al., (2011)** sur la composition phénolique de *Laurus nobilis* a révélé la présence de deux polyphénols seulement dans les extrait aqueux à s'avoir : l'acide tannique et la rutine.

Ces résultats préliminaires ont confirmé que l'utilisation traditionnelle des feuilles de *Laurus nobilis* dans l'industrie alimentaire est reliée non seulement à l'odeur et à l'arôme plaisant, mais probablement aussi a des possibilités préservatives des substances présentes dans les feuilles et d'autres parties de cette plante.

II. Substances bioactives des plantes médicinales

Un grand nombre de métabolites secondaires (des plantes) présente des propriétés pharmacologiques intéressantes, parfois exploitées dans un but thérapeutique.

La plante est le siège d'une intense activité métabolique aboutissant à la synthèse de principes actifs les plus divers. Ce processus métabolique est lié aux conditions mêmes de vie de la plante : la plante doit faire face à de multiples agressions de l'environnement dans lequel elle vit : prédateurs, microorganismes pathogènes, etc. la plante développe un métabolisme particulier lui permettant de synthétiser les substances les plus diverses pour se défendre ce qu'on appelle les métabolites secondaires (**Kansole, 2009**).

II.1 Composés phénoliques

L'élément structural de base est un noyau benzoïque (Figure 2) auquel sont directement liés un ou plusieurs groupes hydroxyles (OH), libres ou engagés dans une autre fonction chimique (éther, méthylique, ester, sucre...) (**Bruneton, 1993**).

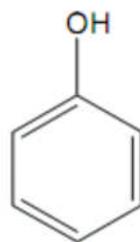


Figure 2 : Structure de base des composés phénoliques (**Bruneton, 1993**)

Les composés phénoliques sont des molécules hydrosolubles présentes dans tous les végétaux. Ils ont divers effets sur la physiologie végétale de part, leurs actions antibactériennes et antifongiques, d'autre part ils participent à la pigmentation des fleurs, des légumes et de quelques fruits (raisins, agrumes, etc.). Certains d'entre eux sont responsables de l'amertume et d'astringence (**Adrian et Frangne, 1991 ; Milane, 2004**).

Les fonctions principales attribuées à ces composés chez les végétaux sont la protection contre les pathogènes et les herbivores ainsi que la limitation des dommages dus aux radiations UV. Dans ce cas, ils agissent par effet d'écran et par effet antioxydant (**Lebham, 2005**).

II.2 Biosynthèse des composés phénoliques (ou polyphénols)

Les polyphénols constituent le groupe de métabolites le plus large et le plus répandu du règne végétal. Composés de plus de 8000 structures allant de simples phénols de bas poids moléculaire (acides phénoliques) à des hauts composés polymérisés (les tanins). Ils peuvent être conjugués avec un ou plusieurs résidu(s) sucre(s) lié(s) ou liés avec d'autres composés chimiques, tels que les acides carboxyliques, les amines ou les lipides ou avec d'autres phénols existant également (**Yao, et al., 1995**).

Les phénols des plantes sont synthétisés à partir de deux voies principales :

➤ *Voie du shikimate :*

Cette voie permet la transformation des monosaccharides, issus du métabolisme primaire, en acides aminés aromatiques (phénylalanine et tyrosine). Par désamination, ces acides aminés conduisent à la formation des acides cinnamiques et à leurs nombreux dérivés tels que les acides benzoïques, les lignines et les coumarines (**Bruneton, 1999**).

➤ *Voie de phénylpropanoïde :*

La voie de phénylpropanoïde commence par la phénylalanine (Phe) qui fournit en plus des principaux acides phénoliques simples, coumarines, isoflavonoïdes, flavonoïdes, acide salicylique et des précurseurs de lignine, qui est quantitativement le second biopolymère le plus important après la cellulose (**hoffmann L, 2004**).

II.3 Classification des composés phénoliques

Les polyphénols sont classés en fonction de leur mode de biosynthèse et de leur structure. Les principaux composés phénoliques végétaux sont :

II. 3.1. Acides phénoliques

Ils ne possèdent pas de squelette flavane. Ils sont solubles dans l'éther. Ils peuvent être associés à la lignine, présents sous forme d'ester, ou bien localisés dans la partie de la feuille insoluble dans l'alcool (**Barboni, 2006**). Ils présentent des propriétés biologiques intéressantes : anti-inflammatoires, antiseptiques urinaire, antiradicalaires, cholagogues, hépatoprotecteurs, cholérétiques, immunostimulants (**Bruneton, 1999**). Nous distinguons :

Les dérivés de l'acide benzoïque (constitués d'un squelette à sept carbones). Les dérivés d'esters hydroxycinnamiques (constitués d'une structure de type C6-C3) (**Barboni, 2006**).

II.3.1.1. Acides benzoïques

Les acides benzoïques sont formés d'un squelette à sept atomes de carbones. Ils sont principalement représentés par les acides p-hydroxybenzoïques, protocatéchiques, vanilliques, galliques, syringiques, salicyliques, o-hydroxybenzoïques et gentisiques. Les acides protocatéchiques et galliques ont probablement une origine et des fonctions différentes dans la plante. Le premier est très largement répandu, le second est plus rare, il est rencontré dans la nature surtout sous forme de dimère (**Ribéreau-Gayou, 1968**).

II.3.1.2. Acides cinnamiques

Ces acides possèdent une structure du type C6-C3. Les composés les plus fréquents sont l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide fertarique et l'acide cinnamique (**Figure 3**) (**Ribéreau- Gayou, 1968**).

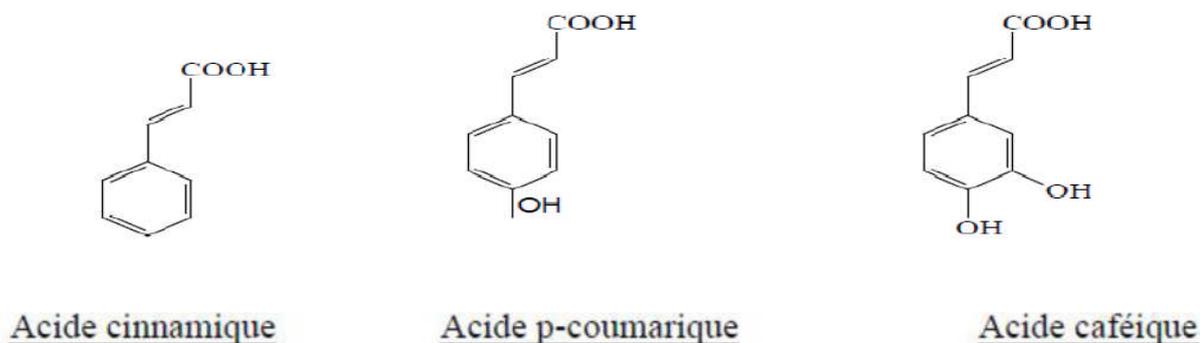


Figure 3 : Quelques dérivés de l'acide hydroxycinnamique (**Ribéreau- Gayou, 1968**).

II.3.2. Flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des molécules très répandues dans le règne végétal. Ils font partie de la classe des polyphénols, principaux métabolites secondaires des plantes. Les flavonoïdes ont une origine biosynthétique commune et, de ce fait, présentent le même élément structural de base (sauf exceptions : chalcones, aurones, isoflavones), à savoir quinze atomes de carbone constitués de deux cycles en C6 (A et B) reliés par une chaîne en C3 (noyau 2-phényl-1-benzopyrane) (Figure 4) (**Bruneton, 1999**).

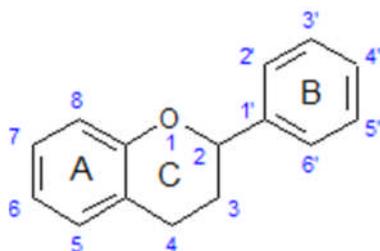


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes (**Bruneton, 1999**).

La famille des flavonoïdes peut se diviser en six classes qui diffèrent par leurs structures chimiques : flavanols, flavones, flavonols, flavanones, isoflavones et anthocyanidines (Figure 5) (**Medic Sanic et al., 2004**).

De nos jours, les propriétés des flavonoïdes sont largement étudiées dans le domaine médical où on leur reconnaît des activités antivirales, anti-tumorales, anti-inflammatoires, antiallergiques, antioxydantes et anti-cancéreuses (**Middleton et Kardasnam, 1993**).

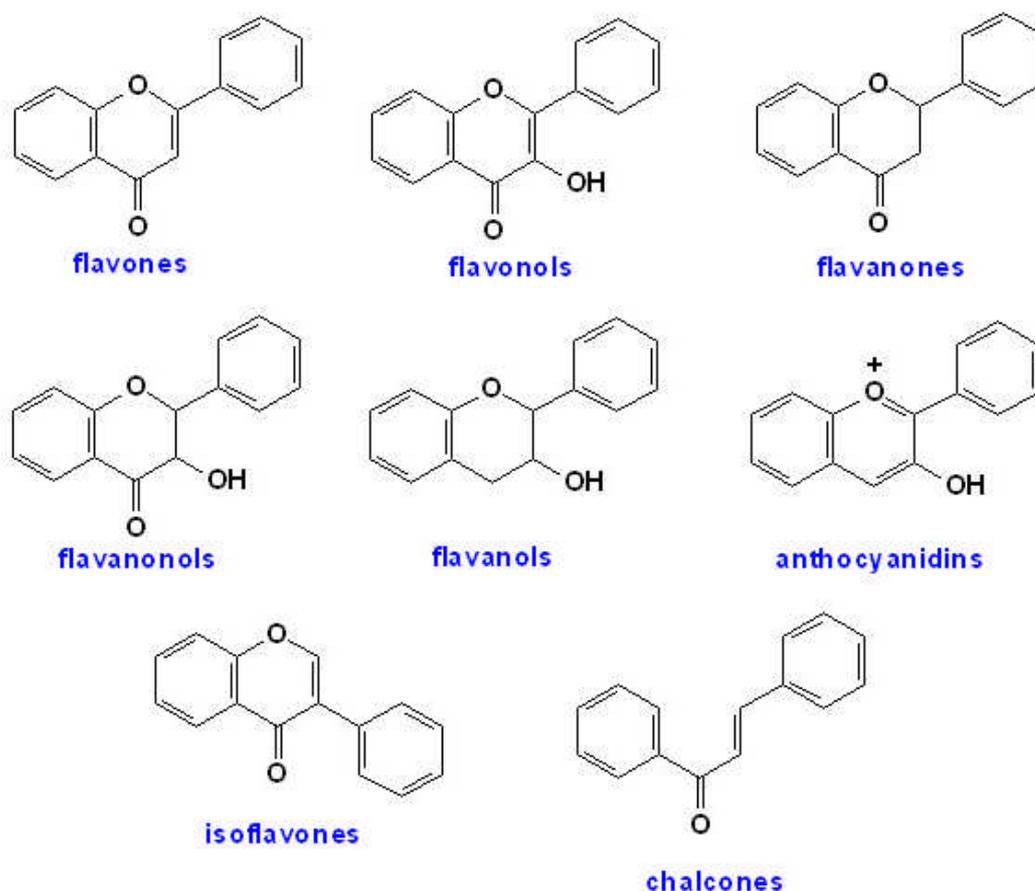


Figure 5 : Structure de quelques classes de flavonoïdes (Medic Sanic *et al.*, 2004)

II. 3.3. Anthocyanes

Les anthocyanes (du grec *anthos*, fleur et *Kuanos*, bleu violet) terme général qui regroupe les anthocyanidols et leurs dérivés glycosylés. Ces molécules faisant partie de la famille des flavonoïdes et capables d'absorber la lumière visible, ce sont des pigments qui colorent les plantes en bleu, rouge, mauve, rose ou orange. Leur présence dans les plantes est donc détectable à l'œil nu. A l'origine de la couleur des fleurs, des fruits et des baies rouges ou bleues, elles sont généralement localisées dans les vacuoles des cellules épidermiques, qui sont de véritables poches remplies d'eau. Les anthocyanes se trouvent également dans les racines, tiges, feuilles et graines (Bassas *et al.*, 2007).

➤ Structure chimique

Leur structure de base est caractérisée par un noyau "flavan" généralement glycosylé en position C3. Les anthocyanes se différencient par leur degré d'hydroxylation et de méthylation, par la nature, le nombre et la position des oses liés à la molécule. L'aglycone ou anthocyanidine constitue le groupement chromophore du pigment (Figure 6) (Bessas *et al.*, 2007).

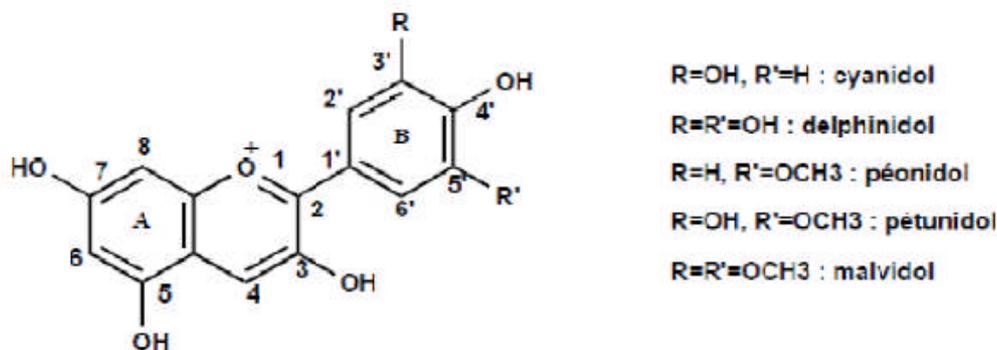


Figure 6 : Structure générale des anthocyanes (le cation flavylum) (Bessas *et al.*, 2007).

II.3.4. Tanins

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé. Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux feuilles et les rendent impropres à la consommation pour les insectes ou le bétail. Les tanins sont des polyphénols qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour « tanner » les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections. Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, comme dans le cas des veines visqueuses, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par une brûlure (Iserin, 1996).

Les tanins sont divisés en deux groupes :

- Les tanins condensés, formés de proanthocyanidines (sous forme d'oligomères)
- Les tanins hydrolysables, esters des acides phénols et de glucose.

➤ **Tanins condensés**

Les tanins condensés, appelés aussi proanthocyanidines, sont largement répandus dans l'alimentation humaine. Ces tanins sont des oligomères ou polymères de flavan-3-ols qui ont la propriété de libérer des anthocyanes en milieu acide à chaud par rupture de la liaison inter monomérique (**Guignard, 1996**).

➤ **Structure**

La structure complexe des tanins condensés est formée d'unités répétitives monomériques qui varient par leur centre asymétrique et leur degré d'oxydation. Les formes naturelles monomériques des flavan-3-ols se différencient par la stéréochimie des carbones asymétrique C2 et C3 et par le niveau d'hydroxylation du noyau B. Il existe les catéchines (dihydroxylées) des gallocatéchines (trihydroxylées) (**Bessas et al., 2007**).

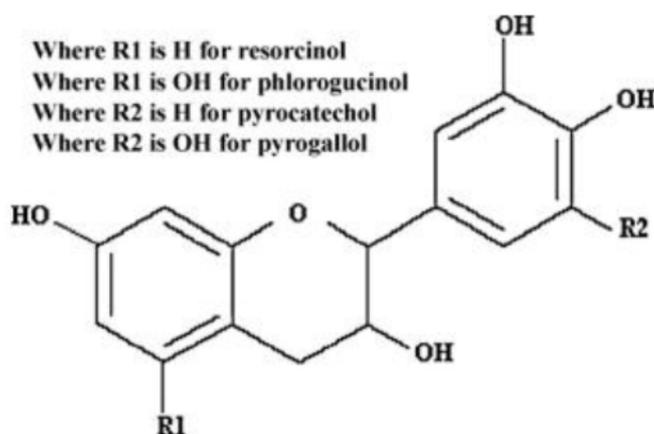


Figure 7 : Structure moléculaire de base des tanins condensés (**Bessas et al., 2007**)

➤ **Tanins hydrolysables**

Les tanins hydrolysables sont des esters de glucides ou d'acide phénols, ou de dérivés d'acides phénols ; la molécule glucidique est en général du glucose, mais dans certains cas des polysaccharides. Ce groupe de tanins est caractéristique des dicotylédones. Ces tanins en raison de leurs nombreux groupements OH se dissolvent plus ou moins (en fonction de leur poids moléculaire) dans l'eau, en formant des solutions colloïdales (**Guignard, 1996**).

➤ Structure

Les tanins hydrolysables sont constitués d'un noyau central -le glucose- et de chaînes latérales (en position 1, 2, 3, 4 ou 6 sur le glucose) comprenant 1 à n monomère(s) d'acide phénol. Des liaisons carbone à carbone entre noyaux (liaisons biphenyle réalisées par couplage oxydatif), conduisent à des molécules ramassées plus rigides de solubilité diminuée dites les tanins éllagiques (**Bessas et al., 2007**).

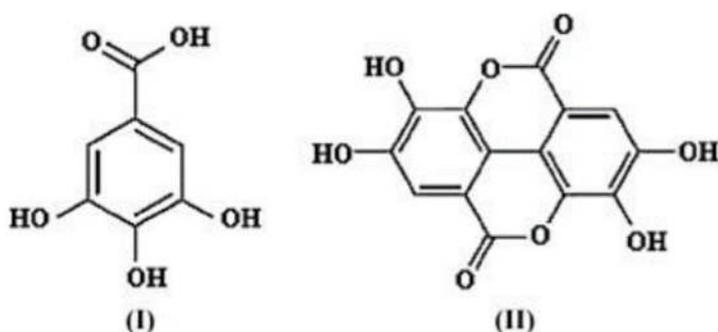


Figure 8 : Structure moléculaire de base des tanins hydrolysable Acide gallique (A) et ellagique (B) (**chabaan, et al., 2011 ; Yokozawa, et al., 1998**).

II.4. Effets biologiques des polyphénols

Les polyphénols sont associés à de nombreux processus physiologiques. En effet, la capacité d'une espèce végétale à résister à l'attaque des insectes et des microorganismes est souvent corrélée avec la teneur en composés phénoliques (**Bahorun, 2005**). De plus, ces composés montrent des activités anti-carcinogènes, anti-inflammatoires, antiathérogènes, anti-thrombotiques, analgésiques, antibactériennes, antiviraux, anticancéreux, anti-allergènes, et antioxydantes (**Gomez-Caravaca et al., 2006**).

II.5. Le rôle des polyphénols dans la plante

Les flavonoïdes sont des composés qui possèdent de fortes propriétés anti-oxydantes (**Rice-Evans, 1995**). Ils sont synthétisés par les plantes lors de l'invasion microbienne (**Dixon et al, 1983**), il est par conséquent logique, qu'ils agissent comme substances antimicrobiennes efficaces *in vitro* contre les microorganismes (**Cowan, 1999**).

Les isoflavones sont des flavonoïdes dont leur distribution est restreinte, ce sont des phytoalexines (substances produites par la plante en réponse à une infection par un agent pathogène ; champignon par exemple). Ce sont donc des produits de défense naturelle, (**Kansole, 2009**).

Les flavones et les anthocyanes augmentent la réponse à la lumière visible de forte intensité. Ils sont probablement synthétisés par les végétaux dans le but d'atténuer l'intensité de la lumière qui atteint les cellules photosynthétiques (**Lois, 1994**).

Tableau III : Activités biologiques des composés polyphénoliques (**Bahorun, 1997**)

POLYPHENOLS	ACTIVITES
Acides Phénols (cinnamiques et benzoïques)	Antibactériennes Antifongiques Antioxydantes
Coumarines	Protectrices vasculaires et antioedémateuses
Flavonoïdes	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydantes
Anthocyanes	Protectrices capillaro-veineux
Proanthocyanidines	Effets stabilisants sur le collagène Antioxydantes Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires
Tanins galliques et catéchiques	Antioxydantes

L'effet antioxydant des anthocyanes est expliqué en partie par le piégeage des radicaux libres et la chélation des métaux. Les anthocyanes inhibent les enzymes protéolytiques de dégradation du collagène (élastase, collagénase), ce qui explique leurs propriétés vasoprotectrices et anti-oedémateuse (**Bruneton, 1999**).

➤ Rôles des polyphénols chez l'Homme

Les évidences épidémiologiques ont soutenu le rôle des antioxydants, y compris les composés phénoliques qui jouent un rôle dans la prévention contre plusieurs maladies chroniques telles que le diabète, les maladies bactériennes et les maladies parasitaires (**Alesiani *et al.*, 2007**).

L'organisme soumis à un stress oxydant, développe diverses pathologies comme les maladies cardiovasculaires, les cancers ou les maladies neurodégénératives. Les effets protecteurs cardiovasculaires des polyphénols sont de mieux en mieux établis. Selon une étude néerlandaise, la consommation d'aliments riches en flavonoïdes réduirait la mortalité par les maladies coronariennes chez les hommes âgés (**Edeas, 2007**).

Le rôle des polyphénols dans la prévention des maladies cardiovasculaires et des cancers est largement étudié. Les polyphénols sont des molécules antioxydantes naturelles intéressantes pour la conservation des aliments que pour celle des produits cosmétiques. Ils développent un effet protecteur vis-à-vis des rayons UV sur la peau. Cette propriété en fait des principes actifs potentiels pour des produits cosmétiques (**Edeas, 2007**).

II.6. Mécanisme général d'action des antioxydants phénoliques

Le terme « phénolique » s'adresse à des composés comportant un ou plusieurs groupements hydroxyles greffés sur un noyau benzoïque. Cette particularité structurale donne à la fonction phénol un caractère plus acide que les autres groupements alcools : elle perd facilement un proton H⁺ pour former l'ion phénoxy. La perte d'un hydrogène : proton plus électron engendre la formation d'un radical fortement stabilisé par mésomérie. C'est cette réactivité chimique qui confère aux composés phénoliques leur caractère antioxydant. En cédant un hydrogène aux peroxydes lipidiques, ils les stabilisent sous forme d'hydroperoxydes et bloquent les réactions de propagation de la chaîne d'oxydation. Ce type de mécanisme s'applique aux antioxydants « primaires » ou « antiradicalaires » (**Sarni-Manchado et Cheynier, 2006**).

Selon le type et le mode d'action des polyphénols, on distingue deux types d'antioxydants :

➤ Antioxydants primaires

Ils sont aussi appelés brise-antioxydants de la chaîne. Ils ont la capacité de réagir avec les radicaux lipidiques pour les convertir en produits plus stables. Ce sont principalement des substances phénoliques. Plus précisément, une molécule sera capable d'agir comme un

antioxydant primaire s'il est en mesure de donner un atome d'hydrogène rapidement à un radical lipidique (ROO[•]) (**Punchard et Kelly, 1996**). Les tocophérols naturels et synthétiques, gallates alkyle, BHA, BHT, hydroquinone de butyle tertiaire (TBHQ), etc. appartiennent à ce groupe et fonctionnent en tant qu'agent donneur d'électrons (**Barlow, 1990**).

➤ **Antioxydants secondaires**

Ils sont aussi connus comme des antioxydants préventifs et ils réduisent le taux d'ouverture de la chaîne par divers mécanismes, y compris des composés qui se lient aux ions métalliques, l'oxygène de récupération, décomposent les hydroperoxydes en des espèces non radicalaires, absorbent les rayonnements UV ou désactivent l'oxygène singulet. Dilauryle thiopropionate et acide thiodipropionique, qui fonctionnent en décomposant les hydroperoxydes lipidiques dans les produits finaux stables, sont des exemples de cette catégorie (**Özcan, 2006**).

III. Méthodes de séchage et d'extraction

Le séchage est l'un des moyens couramment utilisé pour la préservation des aliments en général et des fruits et légumes en particuliers (**Li et al., 2010; Karim et al., 2012**). Il inhibe d'une part les enzymes responsables de la dégradation des polyphénols telles que, les polyphénoloxydases et d'autre part il empêche la prolifération bactérienne (**Ribéreau-Gayou, 1968; Adrian et al., 1998**).

III.1. Définition

Le séchage est par définition l'opération dont l'objectif est d'éliminer par évaporation l'eau d'un corps humide (solide ou liquide), le produit final obtenu étant toujours un solide. Cette définition peut être généralisée à l'élimination par évaporation de toute substance volatile d'un mélange (élimination d'un solvant d'extraction) (**Bimbenet et al., 2002**).

Dans cette opération deux phénomènes ont lieu : un transfert de chaleur vers le produit pour faciliter la vaporisation de l'eau, et un transfert de matière (en général de l'eau à l'état liquide pour le transfert interne et de la vapeur d'eau pour le transfert externe) du produit vers l'atmosphère environnante. Le plus souvent de l'air chaud est utilisée comme fluide de séchage apportant la chaleur et évacuant l'humidité (**Bimbenet, 1984**). Il consiste à éliminer l'eau de l'aliment ce qui permet sa stabilité par abaissement de l'activité de l'eau (**Alibas et Ilknur, 2007 ; Karim et al., 2012**).

III.2. Objectif

L'utilisation du séchage dans les industries agro-alimentaires à de multiple buts dont le principal est de prolonger la durée de conservation des produits (viandes, poissons, fruits, graines, pâtes, épices, thé, champignons) (**Jean-Jacques, et al., 2003 ; Alibas, 2007**); inhibition de l'activité des microorganismes, des enzymes ou des ferments de la matière (**alibas, 2007 ; Maskan, 2001**) ; stabiliser les produits agricoles (maïs, riz, lait, tomate) et amortir le caractère saisonnier de certaines activités .Le séchage permet aussi de diminuer la masse et le volume des aliments pour réduire leur encombrements et faciliter leurs emballages et transports (**Jean-Jacques, et al., 2003 ; Lewicki, 2004 ; Jean, 2011**).

III.3 Principe du séchage

La première idée qui vient à l'esprit pour sécher un produit est de le porter à la température d'ébullition de l'eau, qui alors se vaporise. En réalité, ce principe n'est pas le plus employé et l'on préfère souvent opérer à température moins élevée en utilisant l'air comme gaz d'entraînement. Trois modes d'élimination d'eau d'un produit peuvent être distingués :

- **Mode mécanique**

C'est l'élimination du liquide par des forces purement mécaniques (pressage, centrifugation,...). Certains processus de pré-concentration et de pré-séchage peuvent se réaliser sans transfert thermique mais par simple transfert de quantité de mouvement (**Mafart, 1996**). Le tableau suivant en donne quelques exemples.

- **Mode chimique**

Méthodes extractives basées sur des interactions chimiques, physiques ou physicochimiques, telle que la déshydratation imprégnée par immersion (**Jaean-Jacques et al., 2003**).

- **Mode thermique**

Ce type d'opération est essentiellement un transfert de masse nécessitant au préalable une «activation» de l'eau par une certaine quantité d'énergie apportée par un transfert de chaleur (**Jaean-Jacques et al., 2003**).

Durant le séchage, la chaleur est transférée au produit selon trois mécanismes (**Bimbenet et al., 2002**).

- ✓ par conduction : le produit humide est en contact direct avec une surface chaude. La chaleur se déplace du corps le plus chaud au moins chaud (**Jean, 2011**).
- ✓ par convection : il s'agit du mode de transfert le plus courant :
 - à partir de la vapeur d'eau surchauffée ou d'un liquide non miscible à la vapeur d'eau. Il s'agit alors d'un séchage par ébullition.
 - à partir d'un gaz vecteur de chaleur. Dans ce cas, le gaz sert aussi de vecteur à la vapeur d'eau. C'est un séchage par entraînement (**Jean, 2011**).
- ✓ par rayonnement : le produit est exposé à un rayonnement infrarouge ou microondes, ainsi que le séchage solaire à ensoleillement directe (**Jean, 2011**).

La conduction peut permettre un chauffage rapide du produit quand celui-ci est sous forme de couche mince (cas du séchage sur cylindre).

Cependant, les trois mécanismes d'apport de chaleur se combinent les uns aux autres. C'est ainsi, par exemple, que la conduction et le rayonnement peuvent s'ajouter, de façon intentionnelle ou parasitaire, à la convection, dans le cas de séchage par entraînement (**Bimbenet, 1984**).

III.4. Méthodes de séchage

Pour extraire l'eau d'un produit, différents modes peuvent être utilisés.

III.4.1. Séchage par entraînement

Lorsqu'un corps humide est placé dans un courant d'air (ou dans un autre gaz) suffisamment chaud et sec, il s'établit spontanément entre ce corps et l'air un écart de température et de pression partielle de vapeur d'eau (**Linden et Lorient, 1994**). Il s'ensuit un transfert de chaleur de l'air vers le produit, sous l'effet de l'écart de température et un transfert d'eau en sens inverse du fait de l'écart de pression de vapeur d'eau entre la surface du produit et l'air environnant. Le séchage est dit « isenthalpique » si l'énergie nécessaire à la vaporisation de l'eau est exactement égale à celle apportée par l'air chaud (**Daudin, 1983 ; Jean, 2011**).

III.4.2. Séchage par ébullition

Un séchage par ébullition a lieu lorsque le flux thermique transféré au produit est très intense à cause d'un écart de température très élevé entre la source chaude et le produit (par conduction sur une surface chaude (séchoir cylindre), par rayonnement (séchoir microondes), par convection (séchoir à vapeur d'eau surchauffée), par immersion dans de l'huile chaude). Dans toutes ces conditions la température du produit atteint un niveau tel que la pression de vapeur d'eau (p) de ce produit est égale ou dépasse à la pression totale ambiante (p_t): $p \geq p_t$ (**Bimbenet et Bonazzi, 2003**). L'ébullition proprement dite s'observe difficilement dans les solides ou les corps pâteux que dans les liquides (**Perkin, 1980 ; Jean, 2011**).

III.4.3. Séchage à l'air libre

Cette méthode est la plus ancienne et elle est utilisée jusqu' à nos jours. Elle est basée sur un transfert de l'eau de la matrice voulue séchée vers l'air ambiant. En effet, une faible humidité relative de l'air correspond à une température élevée, ce qui lui confère une plus

grande capacité d'entraînement de l'humidité. Ainsi L'augmentation de la température de l'air ambiant est sans effet sur sa teneur en vapeur d'eau, mais les variations de température dans une matrice hydratée aura une incidence sur le contenu en vapeur d'eau de cette dernière (Hossain, et al., 2003).

III.4.4. Séchage par microondes

Plusieurs méthodes de séchage existent, entre autres le séchage par microondes qui est efficace en énergie et en temps et peut, dans certains cas, améliorer la préservation de la qualité du produit (Li et al., 2010).

III.4.4 .1. Définition

Le séchage par microondes appartient au type de séchage par ébullition et obéit à un transfert de chaleur par rayonnement. Ce rayonnement, issu des ondes électromagnétiques, a une fréquence qui se situe entre celle de la lumière infrarouge et celle des ondes de télévision (figure 14). Sa longueur d'onde est comprise entre 1 mm et 1 m, et sa fréquence varie de 300 Mhz à 300 Ghz, en utilisant comme énergie primaire, l'électricité. Dans le spectre, elles se situent dans les hyperfréquences, entre les ondes radios (108 Hz) et l'infrarouge (1012 Hz) (Rougier, 2003).

III.4.4. 2. Mécanisme de séchage par microondes

III.4.4.2.1. Principe

Le phénomène fondamental responsable du chauffage microondes (appelé aussi chauffage par hystérésis diélectrique) est la dégradation par dissipation d'une partie de l'énergie transportée par l'onde électromagnétique. Un matériau diélectrique est un isolant donc un mauvais conducteur d'électricité. Il s'échauffe du fait de la polarisation et de la rotation de ses dipôles (figure 9) puis de leur relaxation lorsqu'ils sont soumis à des champs électriques alternatifs.

Le dégagement de chaleur résultant diffère fondamentalement du chauffage par effet Joule qui est provoqué par des frictions internes entre les électrons et les molécules. De plus, contrairement au chauffage classique, il a lieu dans le volume, d'où son appellation de « chauffage volumique » (Singh et Heldman, 2001).



Figure 9 : Mouvement d'un dipôle dans un champ électrique (Singh et Heldman, 2001).

III.4.4.2. Paramètres influençant le séchage microondes

III.4.4.2.1. Propriétés diélectriques des aliments

Dans le traitement microondes, seules les propriétés électriques du matériel à chauffer sont importantes pour la dissipation de l'énergie électrique en chaleur.

III.4.4.2.2. Puissance microondes dissipée

La puissance microondes est en réalité une densité de puissance (ou puissance volumique) dissipée dans le produit. L'énergie microondes en elle-même n'est pas une énergie thermique. La chaleur provient plutôt de la conséquence de l'interaction entre l'énergie des microondes et le matériau. (Copson, 1975).

III.4.4.2.3. Profondeur de pénétration des microondes

L'absorption progressive de la puissance est caractérisée par la profondeur de pénétration (dp). Elle est définie comme la profondeur dans le matériau pour laquelle le transfert de l'onde a été réduit de 37% par rapport à la puissance entrante (Buffler, 1993).

III.4.4.2.4. Effet du facteur de perte

Le facteur de perte ϵ'' d'un matériau varie avec sa température, sa teneur en eau et la fréquence du champ électrique qui lui est soumis (Sosa-Morales *et al.*, 2010).

III.4.4.2.3. Technologies de séchages combinées aux microondes

Pour comparer différentes techniques de déshydratation, trois aspects principaux du processus peuvent être utilisés. Il s'agit de la vitesse de déshydratation, de la qualité et des caractéristiques du produit final, et des coûts énergétiques et économiques du processus (**Scaman et Durance, 2005**). Le séchage microonde peut être combiné au :

- ✓ séchage microonde sous vide ;
- ✓ séchage microondes combinés à la lyophilisation ;
- ✓ séchage en lit fluidisé combiné aux microondes ;
- ✓ séchage microondes combinés à l'air chaud.

III.4.5. séchage étuve

Il faut préciser la consigne de température de l'étuve, le temps de séjour et la taille de l'échantillon testé. Même si cette taille n'est pas en générale critique, le temps de séjour dans l'étuve doit être adapté au rapport surface/volume. La meilleure durée est « jusqu'à poids constant » pour atteindre la masse sèche. La perte de poids est calculée par la différence de pesée avant et après séchage. L'air présent dans l'étuve peut être augmenté par la vapeur émise par les échantillons séchés en fonction du renouvellement de l'atmosphère interne de l'étuve c'est pour cela les étuves ventilées sont les meilleur et les plus utilisés (**Jean, 2009**).

Il existe d'autres modes de séchage, entre autre :

- Séchage par friture ; qui est l'immersion d'un produit humide dans un bain d'huile chaude (**Gardeli et al., 2008**).
- Séchage par lyophilisation, dont l'eau passe directement de l'état solide (glace) vers la phase vapeur sans l'étape de fusion, ce changement d'état étant appelé « sublimation » (**Kivçak et al., 2005**).

Partie II
Partie Pratique

Chapitre I
Matériel et Méthodes

I.1. Collecte du matériel végétal

La plante utilisée dans cette présente étude est *Laurus nobilis*, elle a été collectée au mois de février, au niveau de la région de **Bejaia (Figure 10)**, Daïra Bejaia, Wilaya de Bejaia.

Les parties qui font l'objet de notre recherche sont les feuilles qui ont été cueillies en février 2014. Les paramètres géographiques de cette région sont représentés dans le tableau IV.

Tableau IV : Situation géographique (www. Google.com)

Station	Altitude	Latitude	Longitude	Superficie
	20 mètres	36° 45' 00 " Nord	5° 04' 00" Est	120.22 Km ²

La situation géographique de cette région est représentée dans la figure 10 :

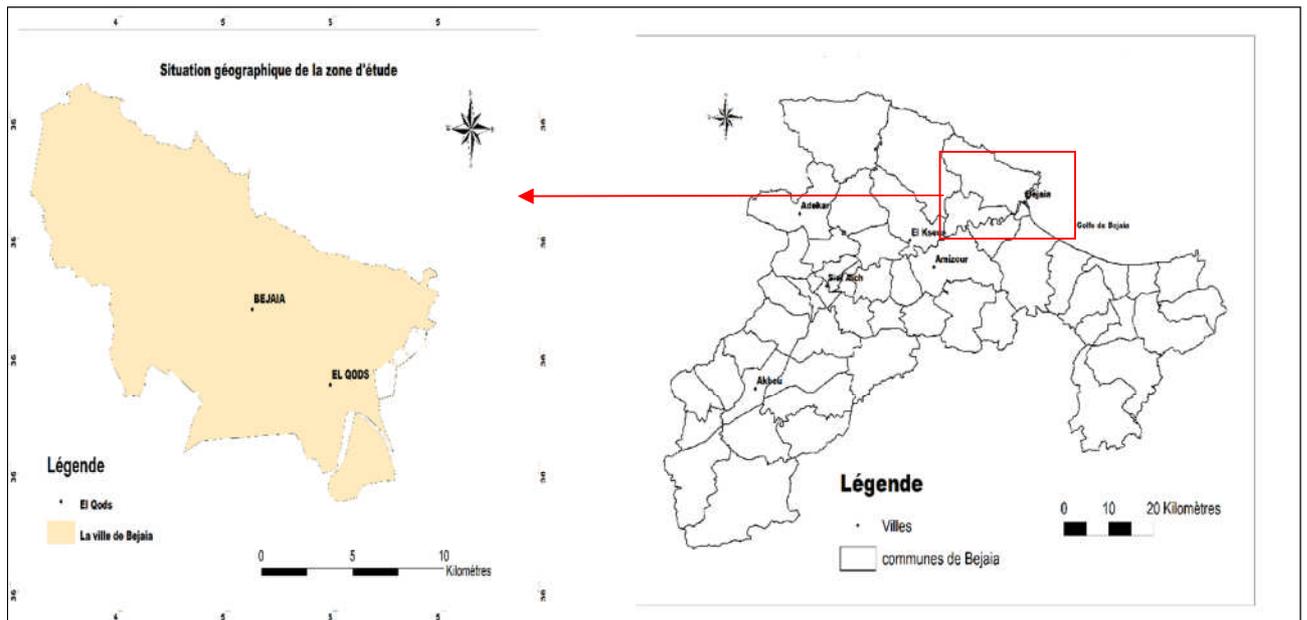


Figure 10 : Carte géographique de la région de Bejaia.

I.2. Traitement des échantillons

Environ 1kg des feuilles de la plante ont été cueillis, bien nettoyer, afin d'éliminer toutes les impuretés, le séchage a été réalisé par trois techniques ; séchage conventionnel dans une étuve à (40, 60, 80, 100, 120 °C) et séchage microondes à différentes puissances (180, 300, 450, 600 et 900 W) et un séchage à l'air libre (environ 25 °C).

I.2.1. Taux d'humidité

Pour déterminer la teneur en eau, un test d'humidité a été effectué. Trois échantillons de 5 g de 2 mm d'épaisseur sont séchés à 104 ± 1 °C, le poids des échantillons est évalué après 4 heures de séchage jusqu'à stabilisation du poids.

La teneur en eau est déterminée selon la formule suivante (**Doymaz et al., 2004**) :

$$H (\%) = \frac{P_0 - P_s}{P_0} * 100$$

Avec :

H% : humidité ;

P₀ : représente le poids initial de l'échantillon ;

P_s : représente le poids sec de l'échantillon ;

P : masse de la prise d'essai.

I.2.2. Cinétique de séchage

Des échantillons de 5 g des feuilles de *Laurus nobilis* ont été séchés par microonde (180, 300, 450, 600 et 900 W), étuve (40, 60, 80, 100 et 120 °C) et air libre. Les cinétiques de séchage ont été suivies régulièrement jusqu'à la masse constante.



Figure 11 : Photographie du micro-onde et de l'étuve.

I.2.3. Broyage et tamisage

Une fois le matériel végétal est séché, broyé (Broyeur IKA model A11 basic), puis tamisé, afin d'obtenir une poudre fine et homogène avec une granulométrie inférieure à 125 μm . La poudre est conservée dans des bocaux en verre, hermétiquement scellés à l'abri de la lumière, pour les utilisations ultérieures.



Figure 12 : Photographie du broyeur et tamiseur automatique.



Figure 13 : Poudre de *Laurus nobilis*

I.3. Extraction par micro-ondes

La technique d'extraction solide/liquide ; la plus utilisée pour l'extraction des polyphénols ; est généralement l'extraction par macération-agitation. Cette technique consomme une grande quantité de solvants (**Shon et al., 2003**).

L'extraction assistée par micro-ondes (ESAM) consiste à traiter par micro-ondes un solide sec ou humide, en contact avec un solvant partiellement ou totalement transparent. Les micro-ondes permettent d'accélérer la cinétique d'extraction et de réduire le ratio solvant/charge (**Michel S et al., 2003**). L'extraction par micro-ondes est une technique qui a été développée pour réduire le volume des solvants nécessaires, améliorer le rendement de la récupération des polyphénols, et réduire le temps d'extraction et de diminuer le coût (**Shon et al., 2003**).

Les polyphénols ont été extraits en utilisant un micro-onde domestique (Samsung MW813ST) modifié, équipé d'un réfrigérant, il fonctionne à une fréquence de 2450 MHz et une puissance de sortie maximale de 1000 W avec une incrémentation de 100 W. Les dimensions de la cavité interne du chauffage sont de 22,5 × 37,5 × 38,6 cm (L, L, H).



Figure 14 : Prototype utilisé pour l'extraction assistée par microondes

Un volume de 28 ml d'éthanol 50% est additionné à 1 g d'échantillon de feuilles de *Laurus nobilis*, dans un ballon à fond plat. L'ensemble est placé dans un micro-onde à une puissance de 400 W pendant 123 s. Après refroidissement, la solution a été filtrée à l'aide d'une pompe sous vide en utilisant un filtre (verre frité) de diamètre 2 μm , les poudres retenues par le filtre ont été réutilisées pour l'extraction par épuisement une deuxième fois dans un volume de 20 ml et une troisième fois dans 10 ml d'éthanol 50% (Dahmoune et al., 2013). Les solutions récupérées ont été ajustées jusqu'à 60 ml. Les filtrats sont conservés au réfrigérateur pour des analyses ultérieures.

I.4. Dosage des polyphénols totaux

1. Principe

Les composés phénoliques réagissent avec le réactif de Folin-Ciocalteu. Le mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$) est réduit en oxydes métalliques ($\text{W}_8\text{O}_{23}/\text{Mo}_8\text{O}_{23}$), de couleur bleue dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des polyphénols, présents dans l'échantillon qui présente un maximum d'absorption entre 725 et 760 nm (Ribéreau-Gayou et al., 1982).

2. Mode opératoire

Le dosage des polyphénols totaux a été fait selon la méthode décrite par (Singleton et Rossi, 1965). Brièvement, un volume de 500 μl d'extrait a été additionné de 2,5 ml de réactif de Folin-Ciocalteu dilué 10 fois. Après 2 mn d'incubation à l'obscurité, 2 ml de carbonate de

sodium 7,5% sont ajoutés. L'absorbance est mesurée au spectrophotomètre à 760 nm après 15 minutes d'incubation au bain marie à 50°C et refroidissement direct dans un bain de glace, le dosage est effectué en triple. La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage (annexe), établie avec le standard étalon d'acide gallique (10-100 mg/l) et exprimée en milligrammes d'équivalents d'acide gallique par gramme de la poudre (mg EAG/g).

I.5. Indice des polyphénols

1. Principe

L'indice des polyphénols totaux est une deuxième méthode plus directe pour évaluer les teneurs en composé phénoliques.

2. Mode opératoire

- réalisation d'une dilution de 1/50 ;
- faire la lecture directe au spectrophotomètre de tous les extraits ;
- lecture à 280 nm ;
- La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation suivante :

$$\text{Indice de polytphénol} = (A_{280} * DF * (1\text{cm}/b) - 4)$$

Avec, *DF* : le facteur de dilution.

I.6. Dosages des flavonoïdes totaux

1. Principe

Les flavonoïdes totaux ont été mesurés par un dosage colorimétrique basé sur la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl₃) (Khennouf, et *al.*, 2010)

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner un complexe avec le groupement (CO) de chlorure d'aluminium. Les flavonoïdes forment des complexes jaunâtres par chélation des métaux du fer et aluminium (Ribéreau-Gayou et *al.*, 1982).

2. Mode opératoire

Les flavonoïdes totaux ont été mesurés par un dosage colorimétrique basée sur la méthode d'écrite par **Bahorun et al., (1996)**. 1 ml de chlorure d'aluminium (AlCl_3 2%) est ajouté à 1 ml d'extrait. Après 10 minutes d'incubation à l'obscurité, l'absorbance du mélange, de couleur jaune, est déterminée à 430 nm. Chaque analyse est répétée trois fois.

La courbe d'étalonnage (**Annexe**) a été réalisée en utilisant la rutine comme standard. Les concentrations en flavonoïdes sont exprimées en milligrammes équivalent Rutine par 1g de poudre.

I.7. Dosage des tannins condensés

1. Principe

Le dosage des tanins est déterminé par la méthode à la vanilline en milieu acide (**Ba et al., 2010**). Elle est basée sur la capacité de la vanilline à réagir avec les unités des tanins en présence d'acide pour produire un complexe coloré mesuré à 500 nm. L'association de la vanilline avec les tanins n'implique que la première unité du polymère.

2. Mode opératoire

- Mélanger 1ml de l'extrait avec 5ml du réactif (HCl + Vanilline) ;
- Mettre à l'obscurité pendant 20 mn ;
- Mesurer l'absorbance à 500 nm.

Les concentrations en tanins sont exprimées en milligrammes équivalent catéchine par 1g de matière sèche (annexe).

I.8. Dosage de la chlorophylle *a*, *b*, et caroténoïdes

1. Principe

Le dosage de la chlorophylle et des caroténoïdes ont été déterminé par la méthode décrite par (**Lichtenthaler, 1982**). Elle est basée sur la mesure des différentes absorbances pour chacune des chlorophylles *a*, *b* et caroténoïdes.

2. Mode opératoire

- Lecture des absorbances à 664 nm concernant la chlorophylle *a* ;
- lecture des absorbances à 648 nm concernant la chlorophylle *b* ;
- lecture des absorbances à 470 nm concernant les caroténoïdes.

les concentrations de la chlorophylle (*a,b*) et des caroténoïdes dans l'échantillon ont été calculées à l'aide des formules suivantes :

$$C_a (\mu\text{g/ml}) = 13.36A_{664.1} - 5.19A_{648.6}.$$

$$C_b (\mu\text{g/ml}) = 27.43A_{648.6} - 8.12A_{664.1}.$$

$$C_{(x+c)} (\mu\text{g/ml}) = (1000A_{470} - 2.13c_a - 97.64c_b)/209.$$

I.9. Caractérisation des minéraux

1. Principe

L'étude des minéraux a été réalisée dans le but de déterminer le types de minéraux présent dans notre échantillon cela a été fait par la méthode de diffraction aux rayons X.

2. Mode opératoire

- Prendre 1g de poudre de chaque échantillon et le mettre à l'incération dans un four à moufle à une température de 600°C pendant 5h ;
- passer à l'étude des minéraux à la DRX (X'Pert PRO PANalytical, Pays-bas) ;
- analyser à l'aide d'un logiciel spécifique.

I.10. Activité antioxydante

I.10.1. Test au radical DPPH°

1. Principe

L'activité anti-radicalaire des extraits est déterminée en utilisant le radical stable DPPH (Dudonné, et *al.*, 2009).

A température ambiante et en solution, le radical DPPH (2,2 diphényl,1-picrylhydrazyle) présente une coloration violette intense. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électriques par un antioxydant s'accompagne de la disparition de la couleur violette (Figure 15) (Boulekbache-Makhlouf, et *al.*, 2013).

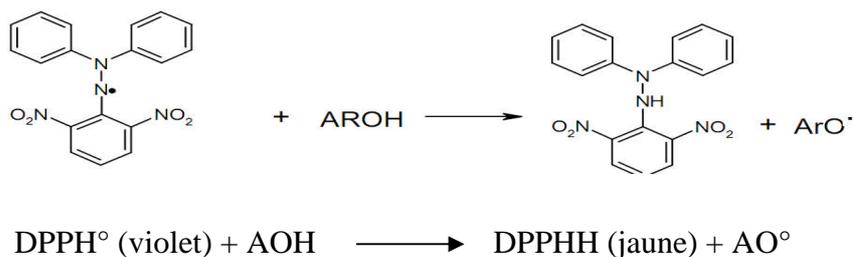


Figure 15 : Réaction d'une structure polyphénolique avec le radical DPPH° (**Dudonné, et al., 2009**).

2. Mode opératoire

L'activité antioxydante des extraits de feuilles de *Laurus nobilis*, a été mesurée en utilisant la méthode rapportée par **Brand-Williams et al. (1995)** avec quelques modifications. Brièvement, 100 µl d'extrait (dilution : 1/5 1/7.5 1/10 et 1/15), sont mélangés avec 3 ml de la solution méthanolique de DPPH°. Après 20 min d'incubation à l'obscurité, l'absorbance des mélanges est lue à 515 nm. Les tests sont réalisés en triple. L'activité anti-radicalaire est calculée selon la formule suivante :

$$AS\% = \left[\frac{Abs\ctl - Abs\ext}{Abs\ctl} \right] \times 100$$

Avec :

AS% : pourcentage d'inhibition ;

Abs_{control} : Absorbance du control (solution DPPH) ;

Abs_{extrait} : Absorbance de l'extrait.

I.10.2. Pouvoir réducteur

1. Principe

Le pouvoir réducteur des extraits obtenus est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanide-Fe³⁺ [FeCl₃/K₃Fe(CN)₆] en fer ferreux Fe²⁺. La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Shon, et al., 2003**).

2. Mode opératoire

Un volume de 0,5 ml d'extrait (dilution : 1/2, 1/3, 1/4, 1/6) est mélangé avec 2,5 ml du tampon de phosphate (0,2 M, pH 6,6) et 2,5 ml de ferricyanide de potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes. En suite, 2,5 ml de l'acide trichloracétique 10% ont été ajoutés au mélange. Un volume de 2 ml est prélevé du précédent mélange auquel est ajouté 2 ml d'eau distillée et 0,5 ml de chlorure ferrique FeCl₃ 0,1%, l'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 700 nm (**Pan et al., 2010**). Les tests sont réalisés en triple.

I.10.3. Pourcentage d'inhibition de l'ABTS

1. Principe

A une température ambiante et en solution le cation radical ABTS^{•+} [l'acide 2,2'-azinobis-(3-ethyl-benzothiazoline-6-sulfonique)], présente une coloration bleuâtre due à la réaction entre l'ABTS et le persulfate de potassium. Son passage à la forme non radicalaire, après saturation de ses couches électroniques par un antioxydant s'accompagne d'une décoloration (**Roberta Re et al., 1998**). La décoloration d'ABTS^{•+} est mesurée par un spectrophotomètre est un résultat de sa réduction par des atomes d'hydrogène données par l'échantillon.

2. Mode opératoire

Un ml d'extrait dilué (dilution : 1/10, 1/15, 1/25) est additionner à 1 ml d'ABTS. Après incubation à l'obscurité et à 37 °C pendant 6 minutes, l'absorbance est mesurée à 734 nm. Les tests sont réalisés en triple (**Amensour M, et al., 2010**).

I.11. Analyse statistique

Les différents tests d'extraction et des dosages ont été complétés par une étude statistique de la variance (Test de Tukey-HSD) à deux critères de classification selon les tests (**Logiciel Xlstat-Pro, ANOVA**).

Chapitre II

Résultats et Discussion

II.1. Traitement des échantillons

II.1.1. Cinétique de séchage

Le séchage des échantillons permet d'assurer une meilleure élimination d'eau, tout en préservant la composition en polyphénols. En outre, l'eau représente une source de dégradation des composés phénoliques par oxydation enzymatique telle que la polyphénols-oxydase qui modifie leurs structures (**Tomas-Barberan et Espin, 2001**).

Le séchage conventionnel (air libre, étuve) et innovant (micro-onde) sont les méthodes adopté dans cette étude et ce dans le but de comparer les performances des deux procédures. La figure 16 représente les points expérimentaux et les courbes obtenues à partir des modèles de cinétiques.

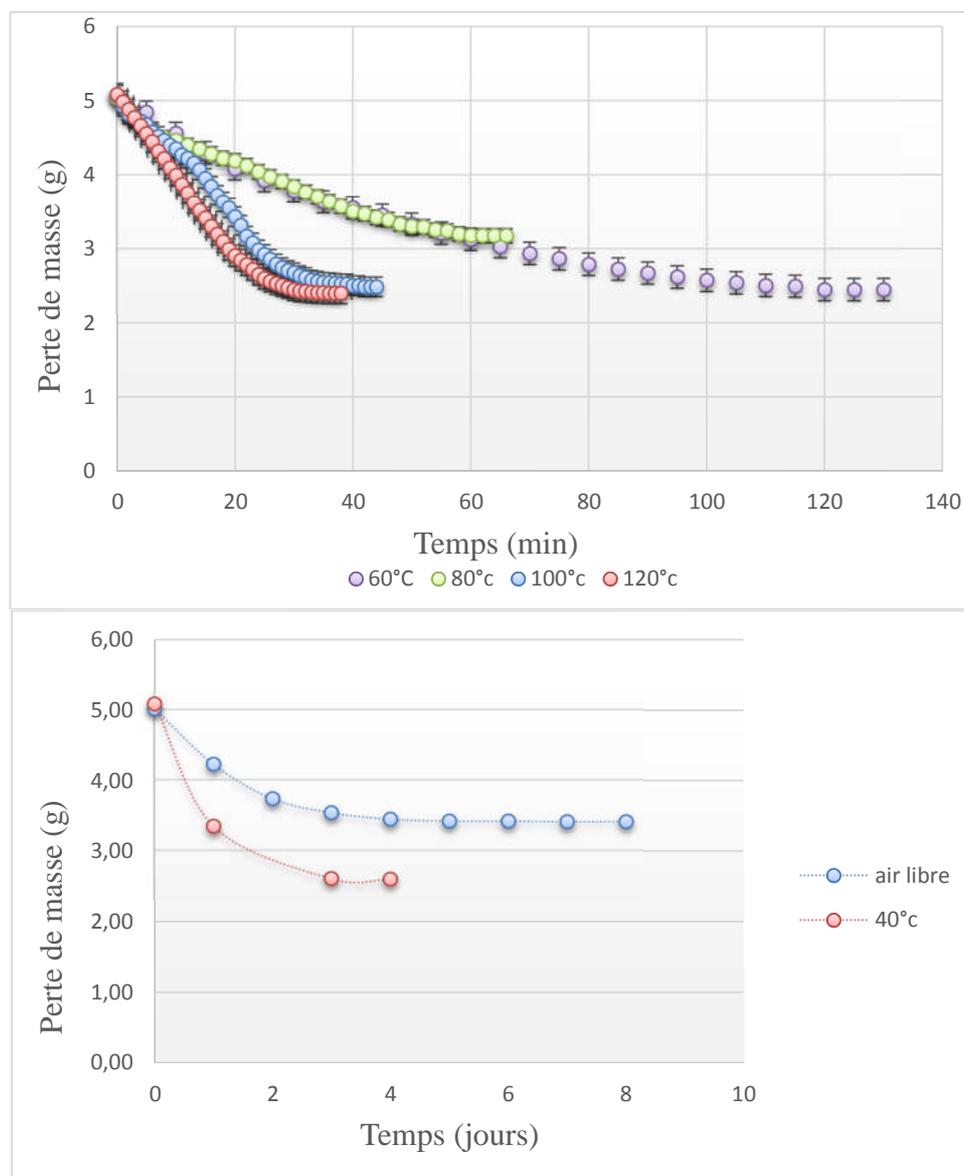


Figure 16 : Cinétique de séchage conventionnelle des feuilles de *Laurus nobilis*.

Les résultats montrent que la température utilisée influe largement sur la vitesse de la perte de masse des feuilles de laurier pendant leur séchage. En effet, à haute température (100 et 120°C), la perte en eau est beaucoup plus rapide. Concernant le séchage à l'air libre et à l'étuve à 40 °C, la vitesse de la perte en eau est très lente.

D'après les résultats de la courbe de cinétique, nous constatons que le temps mis pour la stabilité du poids des échantillons varie selon la température de séchage appliquée. Par conséquent, les couples (Temps-température) ont été déterminés dont le temps correspond au temps nécessaire pour atteindre la stabilité du poids et les résultats sont représentés dans la figure 17.

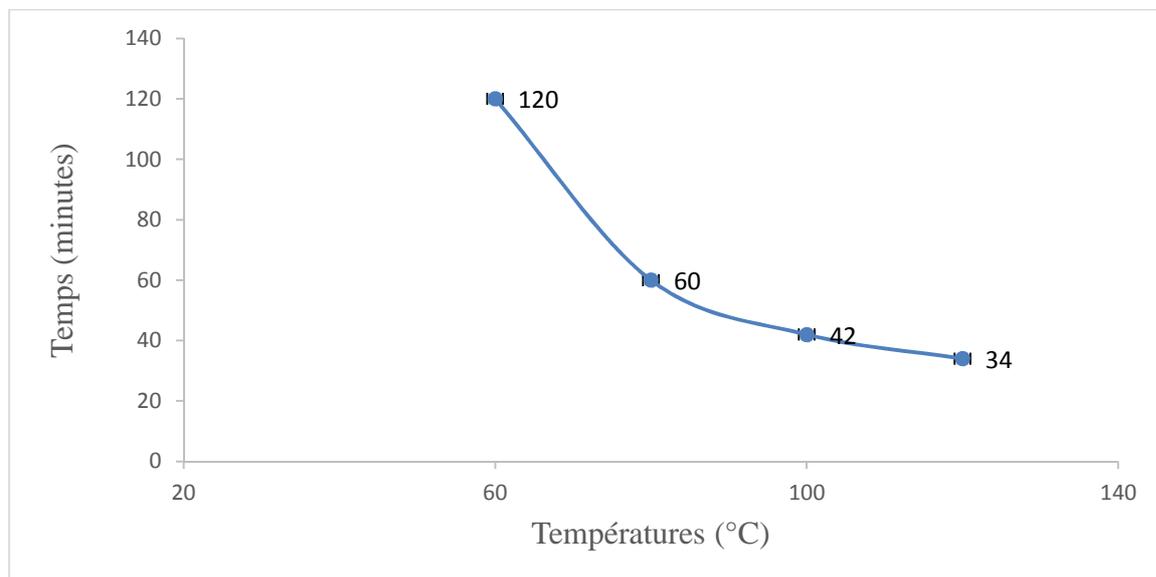


Figure 17 : Temps optimal de séchage par étuve à différentes températures.

Les résultats obtenus montrent que le temps de séchage est inversement proportionnel à la température appliquée. Pour la stabilité du poids des feuilles de laurier, il a fallu seulement 34 min dans le cas de séchage à 120°C suivi du séchage à 100°C qui a fallu 42 min. Par contre pour le même poids d'échantillon séché à l'air libre (25°C) et à l'étuve (40°C) il a fallu 8 jours et 4 jours respectivement.

Selon **Jean (2011)** ; **Jean-Jacques et al., (2003)**, la stabilité du poids (la partie linéaire de la courbe) peut être expliquée par le fait que la température de la surface atteint celle de l'air de séchage car la force de migration de l'eau de l'intérieur vers la surface est insuffisante. D'autre part, il est également possible qu'il n'y plus d'eau libre dans le produits

donc l'humidité de surface est en équilibre avec l'humidité de l'air de séchage, ce qui signifie que le séchage est terminé.

II.1.2. Les cinétique de séchage assistée par micro-onde.

Les cinétiques de séchage des feuilles montrent que la perte de masse est en relation proportionnel avec les puissances de séchage des microondes appliquées. Les courbes ont une allure exponentielle comme le montre la figure 18. En effet, la perte de masse est très réduite quand on applique une puissance de 180 W en comparaison aux fortes puissances.

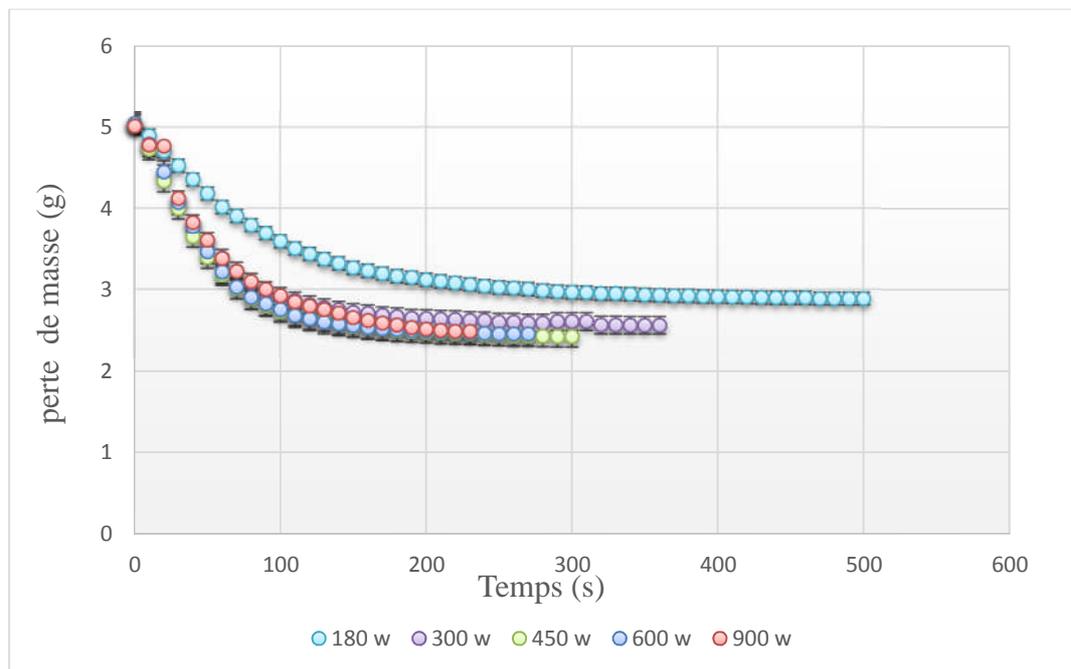


Figure 18 : Cinétique de séchage microonde des feuilles de *laurus nobilis*.

Les couples (temps-puissances) évalués pour le séchage aux microondes sont représentés dans la figure 19

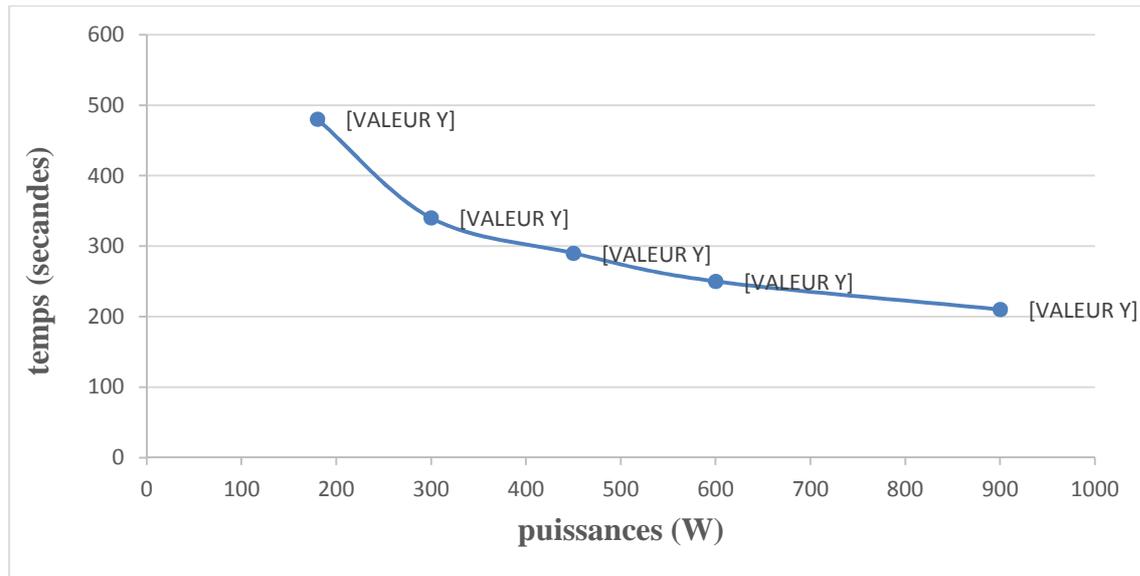


Figure 19 : Temps optimal de séchage par microonde à différentes puissances

Les cinétiques de séchage microonde des feuilles de *Laurus nobilis* montrent que les pertes de poids des feuilles sont en fonction des puissances de traitement. Les temps de séchage les plus courts sont attribués à 900 W qui est de 3min 50s alors que, le laps du temps le plus lent est obtenu lors de séchage à 180W qui a pris 8 min pour atteindre le même poids.

Les résultats obtenus montrent que la durée de séchage est inversement proportionnelle aux puissances de séchage les temps de séchage les plus rapides sont obtenus à des fortes puissances.

La comparaison entre les deux types de séchage appliqués, conventionnel et microonde, a montré que l'utilisation du microonde réduit considérablement le temps de séchage. En effet, ce dernier est diminué de 8 jours et 34 minutes pour le séchage à l'air libre et à l'étuve (120°C) respectivement et à 3 min 50s pour le séchage aux microondes (900W).

L'efficacité de séchage par microondes peut être expliquée par une haute pression interne et les gradients de concentration qui augmentent l'évaporation de liquide à travers le produit jusqu'à la stabilité (Chemat, et al., 2008). Les taux de séchage étaient plus élevés dans le début du processus et se réduisent progressivement jusqu'à la fin de la procédure de séchage. Les taux de déshydratation augmentent parallèlement avec les puissances microondes. Plus le niveau de puissance est grand, plus le temps de séchage est réduit. Cela a été démontré par (Ghanem, et al., 2012) sur l'écorce d'agrumes.

II.2. Détermination de l'humidité et l'activité de l'eau (A_w):

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches renferment 60 à 80 % d'eau. Pour assurer une bonne conservation, la teneur en eau doit être inférieure ou égale à 10 % (**Paris et Moyse, 1965**).

Dans le but d'évaluer l'efficacité du séchage en terme de perte en eau; l'humidité et l'activité de l'eau ont été déterminés pour les différentes poudres obtenues dans les différentes conditions appliquées. Les résultats sont résumés dans le tableau V.

Tableau V : Taux d'humidité et activité de l'eau

Température (°C)	H (%)	A_w	puissance (W)	H (%)	A_w
25	12	0,46	180	12	0,46
40	12	0,41	300	10	0,45
60	12	0,45	450	10,89	0,46
80	12	0,44	600	10,89	0,46
100	12	0,4	900	10,89	0,46
120	12	0,41			

Les résultats montrent que le séchage par microonde permet de déshydrater mieux le matériel végétal que le séchage conventionnel. Concernant l'activité de l'eau on remarque qu'il n'y a pas de différence significative entre les deux précédents procédés.

Ce qui confirme l'efficacité du séchage par microondes en termes de temps et d'humidité.

II.3. Dosage des composés phénoliques

II.3.1. Dosage des polyphénols totaux

Les résultats obtenus pour les poudres des feuilles de *Laurus nobilis* avec les différentes méthodes de séchage (air libre, Etuve et Micro-ondes) sont représentés en mg Equivalent Acide Gallique (mg EAG /g poudre) (**Figure 20**).

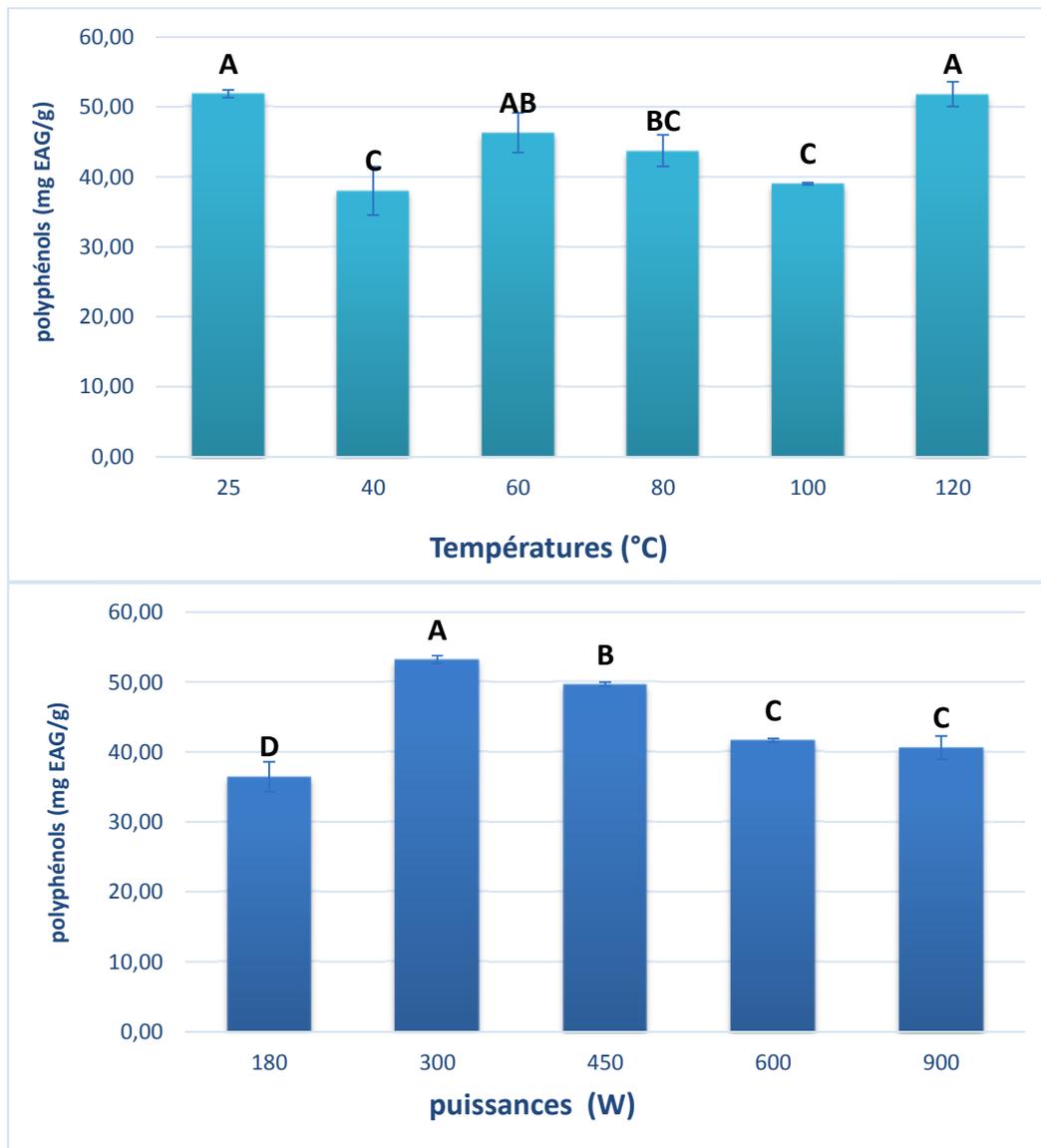


Figure 20: Teneurs moyennes en polyphénols totaux (PPT) des extraits des feuilles de *Laurus nobilis* obtenues par séchage air libre et étuve et microondes.

Tableau VI: Teneurs moyenne en polyphénols totaux (PPT).

Températures (°C)	Teneur en PPT
25	51,89 ± 0,56 ^a
40	38,00 ± 3,44 ^c
60	46,31 ± 2,83 ^{ab}
80	43,75 ± 2,25 ^{bc}
100	39,01 ± 0,18 ^c
120	51,85 ± 1,78 ^a
Puissances (W)	
180	36,46 ± 2,14 ^d
300	53,22 ± 0,59 ^a
450	49,66 ± 0,31 ^b
600	41,67 ± 0,25 ^c
900	40,63 ± 1,67 ^c

Selon la figure 20, les teneurs en polyphénols totaux des extraits obtenus par séchage conventionnel varie entre 38 et 52mg EAG/g. Elles diffèrent d'une température à une autre. Le séchage à l'air libre, et les températures 60°C et 120°C ont donné les teneurs les plus importantes en PPT avec des concentrations de 51,89±0.56, 46,31±2,83 mg et 51,85±1,78 mg EAG/g respectivement par rapport aux autres températures. Les différentes fluctuations observées par rapport aux autres températures peuvent être dues à un effet de température ou du temps ou les deux en même temps.

D'après ces résultats, le séchage par microonde nous donne un bon rendement en PPT. La teneur la plus élevée en PPT est obtenue à 300 et 450W avec une teneur de 53,22 ± 0,59 et de 49.67 ± 0,31 mg EAG/g respectivement. Une diminution de 18 % de la teneur en polyphénols est constatée en passant de la puissance 450 à 900W. La plus faible teneur en PPT est observée à 180 W. Cette diminution est probablement due à la dégradation de ces composés provoqués par la longévité du temps de séchage (dans le cas de 180W) soit par les fortes puissances des radiations (600 et 900 W). (Ketata et al., 2010) affirme que les hautes puissances de séchage influer négativement sur la qualité phénolique (diminution de la quantité en polyphénols). La teneur élevée en PPT à la puissance 300W, s'expliquer probablement par les faibles radiations qui n'ont pas induit la dégradation des composés phénoliques.

II.3.2. Détermination des composés phénoliques totaux par analyse spectrale :

La teneur en polyphénols totaux a été déterminée en utilisant la méthode directe au spectrophotométrique (indice des polyphénols)

Tableau VII: Indice des PPT obtenu par analyse spectrale.

Echantillon	Indice des PPT
Puissances (W)	
180	0,496 ±0,004 ^d
300	0,649 ±0,005 ^a
450	0,581 ±0,005 ^b
600	0,528 ±0,004 ^c
900	0,513 ±0,001 ^{cd}
Températures (°C)	
25	0,667 ±0,008 ^a
40	0,518 ±0,005 ^d
60	0,608 ±0,002 ^b
80	0,572 ±0,004 ^c
100	0,570 ±0,004 ^c
120	0,611 ±0,007 ^b

Selon le tableau VII on constate que les concentrations les plus élevées en polyphénols totaux après séchage par microonde sont attribuées aux puissances 300 et 450W donnant une teneur de 0,649 ±0,005 et 0,581 ± 0,005 respectivement.

Concernant le séchage conventionnel les teneurs les plus élevées en PPT sont obtenues à 25, 120 et 60°C avec des concentrations de 0,667 ± 0,008^a, 0,611 ± 0,007^b et 0,608 ±0,002^b respectivement. Ces résultats s'accordent parfaitement avec les teneurs en polyphénols totaux obtenu avec la méthode en utilisant le réactif folin-ciocalteu.

II.4 Flavonoïdes.

Les teneurs en flavonoïdes contenues dans les poudres issues de différentes méthodes de séchage sont illustrées dans la figure suivante :

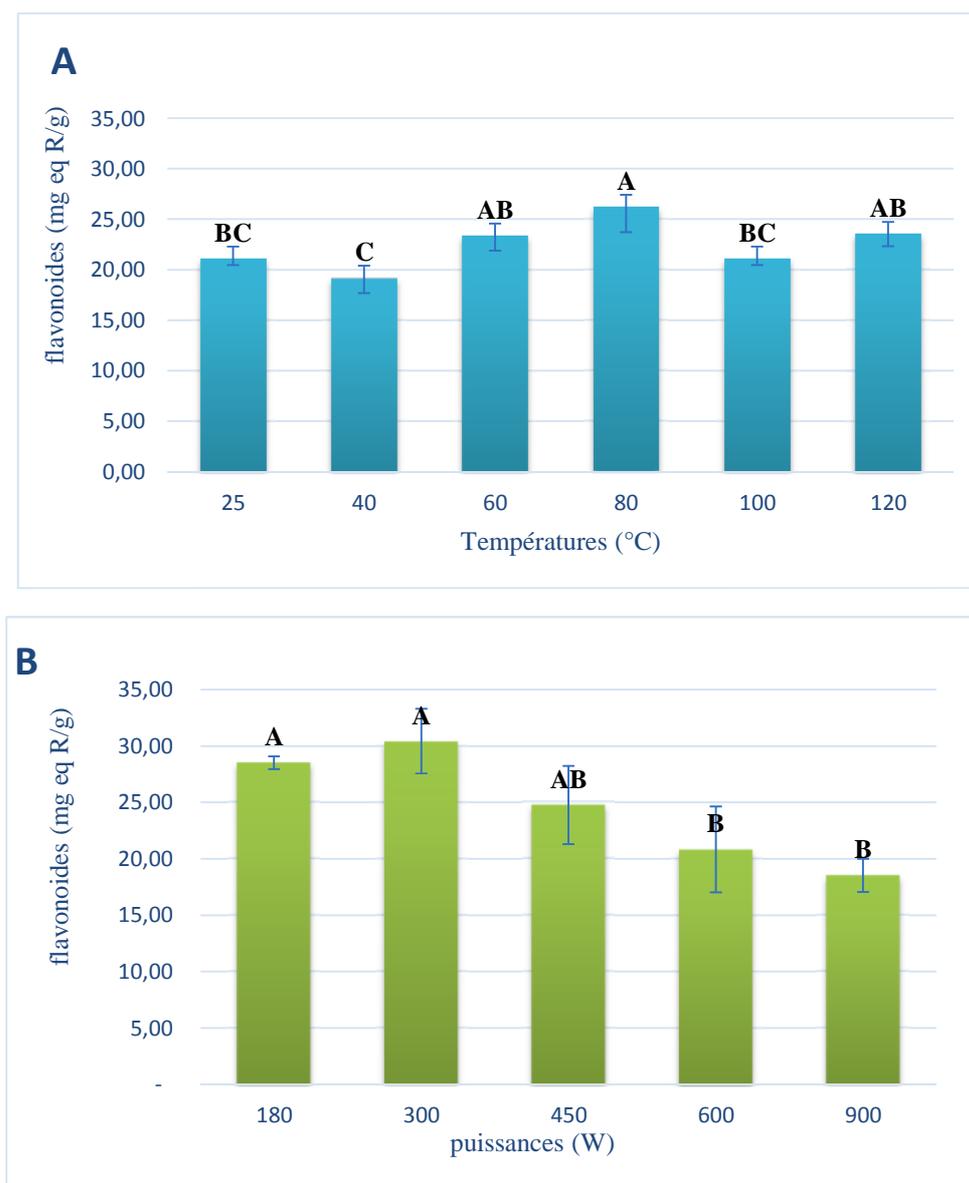


Figure 21 : Teneurs moyennes en flavonoïdes des échantillons séchés à l'étuve et aux microondes des feuilles *Laurus nobilis*.

D'après l'étude statistique on remarque qu'il n'y a pas de différence significative en teneur de flavonoïdes pour les températures 60°C, 80°C et 120°C. Cependant la teneur optimale est de $26,21 \pm 2,49$ mg ER/g à 80 °C, suivi de $23,53 \pm 1,21$ mg ER/g et $23,36 \pm 1,49$ mg ER/g pour 120°C et 60°C respectivement. Le séchage à l'air libre présente une teneur comparable aux résultats obtenus à 120 °C.

En comparaison aux extraits obtenus par séchage aux microondes, le rendement en flavonoïdes a augmenté. En effet, l'échantillon obtenu à 300 W a révélé une teneur de $30,43 \pm 2,87$ mg ER/g et celui obtenu à 180W présente une teneur de $28,53 \pm 0,57$ mg ER/g.

Jusqu'à 900 W donnant une valeur de $18,53 \pm 47$ mg ER/g. Cependant, le séchage à haute puissances diminue le rendement en flavonoïdes. Selon **Liu et al. (2007)** et **zhang, (2007)**, cette diminution est probablement due aux fortes radiations des microondes, responsable de la décomposition des flavonoïdes.

Les résultats obtenus montrent que la teneur en flavonoïdes est largement influencée par les hautes puissances des microondes. Par comparaison au chauffage conventionnel, l'étude a montré que les concentrations les plus élevées sont obtenues lors du séchage à 60, 80 et 120 °C, ce qui correspond parfaitement aux résultats de **Juane Dong et al., (2011)**.

II.5. Les tanins:

Les résultats obtenus de dosage des tanins des différents extraits sont représentés dans la figure suivante.

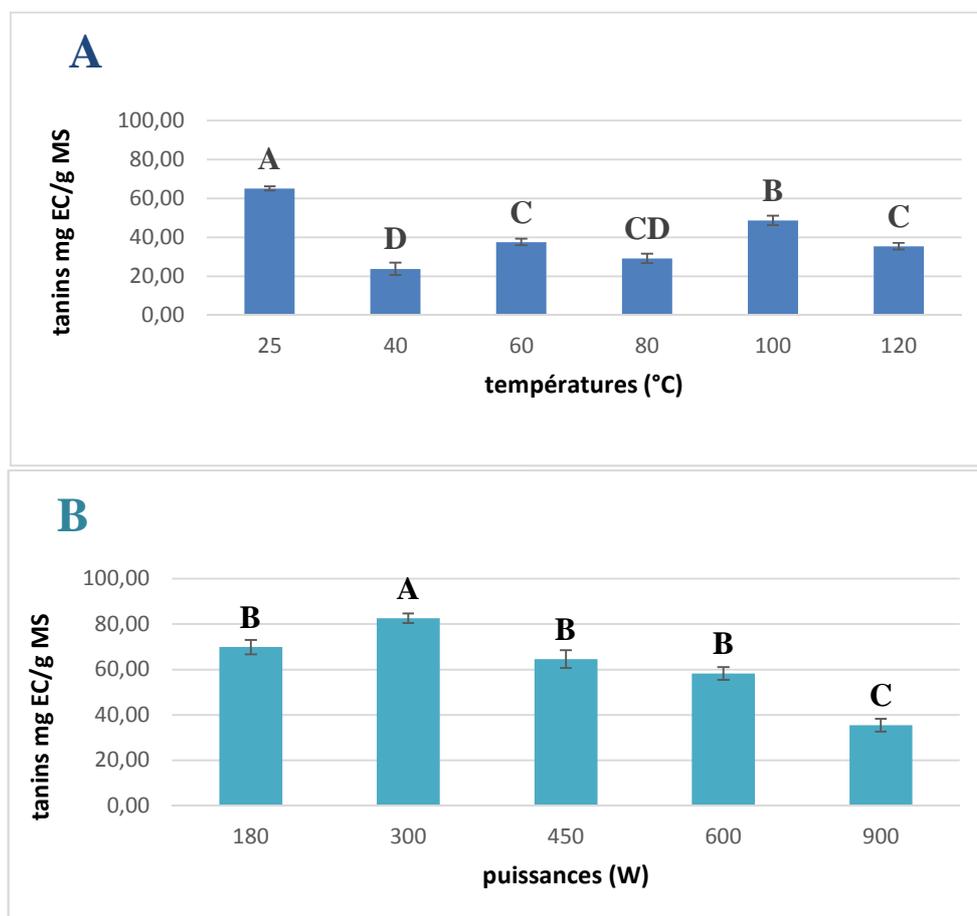


Figure 22: Teneurs moyennes en tanins des échantillons de feuilles séchées à l'air libre, à l'étuve et aux microondes.

D'après la figure, la teneur la plus élevée en tannins est obtenue au séchage à l'air libre avec une teneur de $65,13 \pm 1,06$ mg EC/g. Par contre, les autres conditions de séchage montrent une baisse de la teneur en tannins. En effet, à une température de 120°C , une diminution de la teneur en tannins de 45 % est observée. Par comparaison aux résultats des flavonoïdes, on peut déduire que les conditions de séchage peuvent affecter différemment la composition polyphénolique des extraits.

Le séchage aux microondes montre qu'à 300 W la teneur la plus élevée en tanins est de $82,60 \pm 2,12$ mg EC/g et qui est supérieure aux résultats obtenus avec le séchage conventionnel ce qui concorde aux travaux de **Erikson et al. (2000)**. Les autres puissances appliquées, montrent une diminution de la teneur particulièrement à 900W avec une baisse de 55% est constatée, ce qui correspond aux résultats observés avec les flavonoïdes. Cela est peut-être dû à la dégradation de ces composés sous l'effet d'irradiation des microondes (**Zhang et al., 2007**).

II.6. Chlorophylle *a*, *b* et Caroténoïdes:

Les résultats obtenus lors de dosage des chlorophylles *a*, *b* et caroténoïdes ainsi que la variation du pH des échantillons séchés par différentes méthodes sont représenté dans le tableau suivant :

Tableau VIII : Teneurs moyennes de Chlorophylle A, B et Caroténoïdes des extraits

Echantillons	PH	Chlorophylle A ($\mu\text{g/ml}$)	Chlorophylle B ($\mu\text{g/ml}$)	Caroténoïdes ($\mu\text{g/ml}$)
Microondes (W)				
180	6,78	$0,77 \pm 0,01^{\text{g}}$	$1,32 \pm 0,01^{\text{cd}}$	$0,009 \pm 0,003^{\text{g}}$
300	6,81	$0,61 \pm 0,02^{\text{h}}$	$1,10 \pm 0,03^{\text{f}}$	$0,084 \pm 0,022^{\text{def}}$
450	6,79	$0,88 \pm 0,02^{\text{f}}$	$1,44 \pm 0,03^{\text{c}}$	$0,135 \pm 0,040^{\text{c}}$
600	6,83	$0,87 \pm 0,02^{\text{f}}$	$1,36 \pm 0,02^{\text{cd}}$	$0,100 \pm 0,019^{\text{cde}}$
900	6,87	$0,73 \pm 0,003^{\text{g}}$	$1,12 \pm 0,00^{\text{ef}}$	$0,008 \pm 0,008^{\text{g}}$
Etuve ($^{\circ}\text{C}$)				
25	6,95	$1,78 \pm 0,05^{\text{d}}$	$2,03 \pm 0,05^{\text{a}}$	$0,044 \pm 0,028^{\text{fg}}$
40	6,35	$1,40 \pm 0,01^{\text{e}}$	$1,24 \pm 0,02^{\text{de}}$	$0,330 \pm 0,026^{\text{cd}}$
60	6,89	$2,44 \pm 0,01^{\text{c}}$	$2,12 \pm 0,02^{\text{a}}$	$0,071 \pm 0,002^{\text{ef}}$
80	6,44	$3,13 \pm 0,03^{\text{b}}$	$1,73 \pm 0,01^{\text{b}}$	$0,620 \pm 0,015^{\text{a}}$
100	6,65	$2,52 \pm 0,02^{\text{e}}$	$1,70 \pm 0,01^{\text{b}}$	$0,041 \pm 0,013^{\text{fg}}$
120	6,85	$4,31 \pm 0,00^{\text{a}}$	$2,05 \pm 0,04^{\text{a}}$	$0,561 \pm 0,014^{\text{b}}$

Selon les résultats obtenus on remarque que la chlorophylle *a* est mieux préservé par le séchage microonde que par le séchage conventionnel car lors du séchage aux microondes avec les différentes puissances appliquées on observe aucune différence significative ($p < 0.05$) sur la teneur en chlorophylle *a*. Elle est de $0,77 \pm 0,01$ (avec un pH de 6,78) à 180W et de $0,73 \pm 0,003$ à 900 W avec un pH de 6,87.

Cependant la teneur en chlorophylle *a* est affectée par les différentes températures appliquées. Lors du séchage à l'air libre (25 °C) et à l'étuve 40 °C, on a remarqué que la teneur en chlorophylle *a* est relativement faible et plus on augmente la température de séchage plus les teneurs on chlorophylle *a* augmentent pour atteindre 142% à la température 120 °C par rapport aux résultats obtenus à l'air libre. Ce résultat est semblable aux ceux obtenus dans le cas des caroténoïdes dont une forte augmentation de la teneur est observée à 120°C.

Cette augmentation de la teneur en chlorophylle *a* dans les échantillons chauffés à des températures élevées peut être expliquée par le fait que l'intensité de la chaleur appliquée a favorisé la libération et la disponibilité de la forme libre de la chlorophylle contenue dans les chloroplastes. Par comparaison aux résultats des échantillons traités par microondes, on déduit l'importance de l'effet de temps de séchage sur le rendement en chlorophylle.

Concernant la chlorophylle *b* on remarque qui n'y'a aucun effet significatif du temps de séchage avec l'augmentation des températures ou les puissances sur les teneurs on chlorophylle *b*. Néanmoins, la teneur en chlorophylle *b* des échantillons obtenue par le séchage conventionnel est supérieure à celle retrouvée par microondes ce qui correspond aux résultats précédents.

La détermination de pH dans les extraits des différents échantillons montre qu'il pourrait y avoir un effet sur la teneur en chlorophylle *b* surtout lors du séchage conventionnel. En effet, on remarque que plus le pH est élevé, plus la teneur en chlorophylle *b* est plus importante. Les concentrations les plus élevés sont obtenues avec des séchages à l'air libre, 60 et 120 °C avec des concentrations de $2,03 \pm 0,05$, $2,12 \pm 0,02$ et $2,05 \pm 0,04$ ($\mu\text{g/ml}$) respectivement avec des pH qui varient entre 6,85 à 6,95. Ainsi la chlorophylle se dégrade plus rapidement avec l'abaissement du pH ce qui concorde avec les travaux réalisé par (Nuray Koca, et al., 2005).

II.7. Caractérisation des minéraux:

Les diffractogrammes suivants présentent les différents minéraux présents dans les poudres séchées par les trois types de séchage: séchage étuve à 120 °C, microondes à 900 W et l'air libre

➤ Séchage à l'étuve à 120 °C.

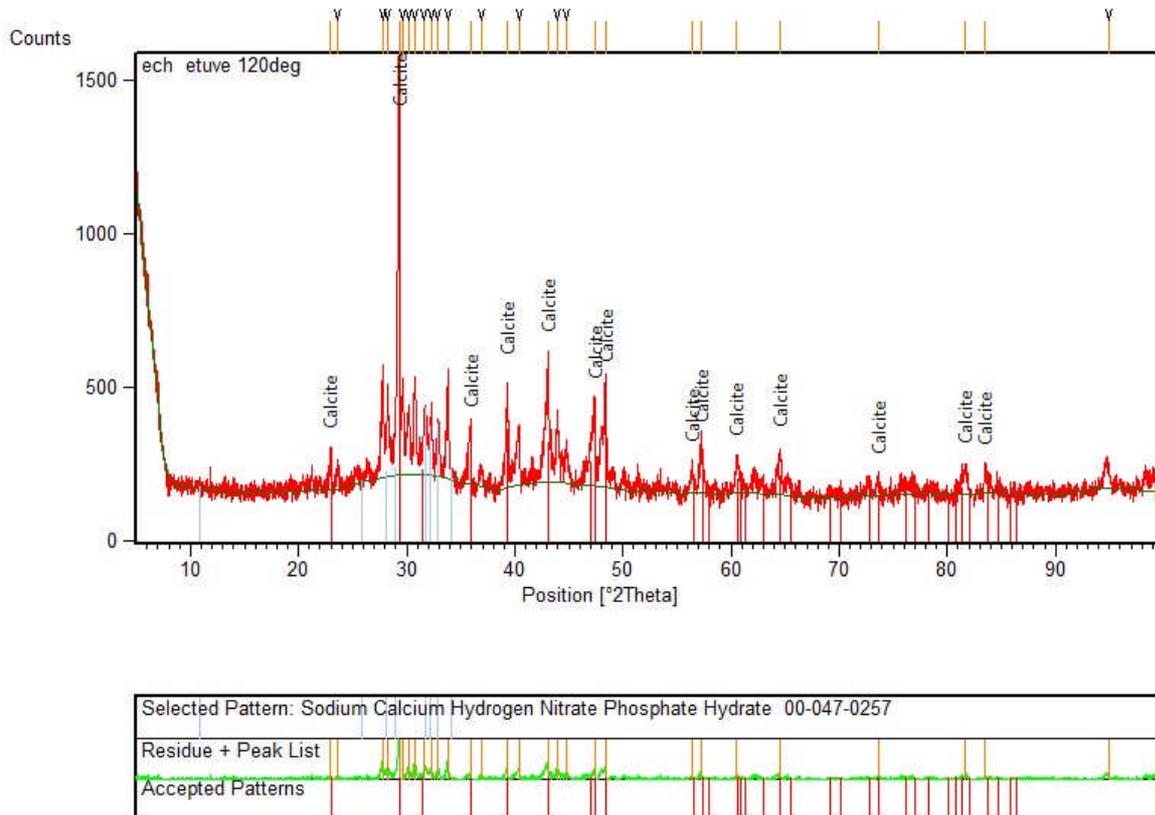


Figure 23 : Teneurs moyenne des différents minéraux présents dans les poudres séchées à l'étuve à 120 °C

Le séchage à 120 °C a montré la présence de plusieurs pics de diffraction en différentes positions avec un pic important en position 29 à une intensité de 1500. La calcite est le minéral majoritaire présent dans notre échantillon

➤ Séchage aux microondes a la puissance de 900W.

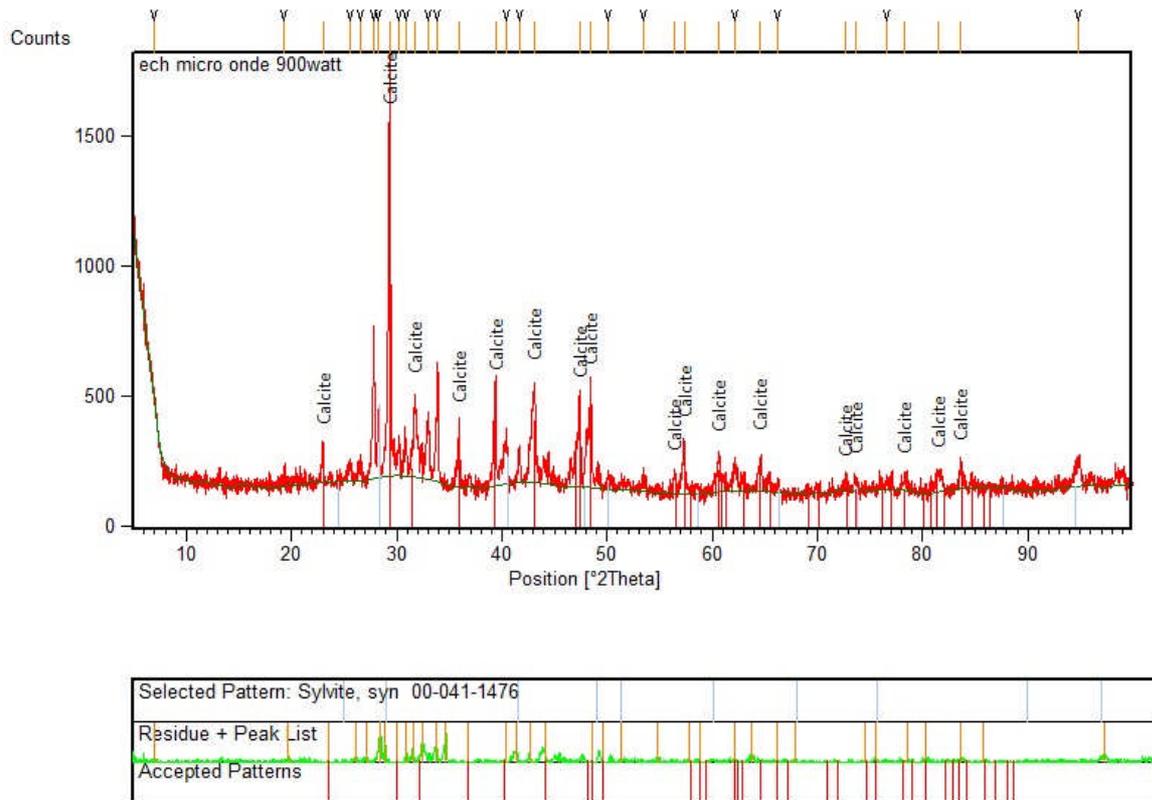


Figure 24 : Teneurs moyenne des différents minéraux présents dans les poudres séchées par microondes à 900 W.

Lors du séchage microondes 900 W on a remarqué aussi la présence de plusieurs pics de diffraction en différentes positions mais le pic le plus haut est retrouvé en position 29 à une intensité d'environ 1750 ce qui est légèrement plus important par rapport au séchage a l'étuve (120 °C). La calcite est toujours le minéral majoritaire retrouvé dans ce cas.

➤ Séchage a l'air libre.

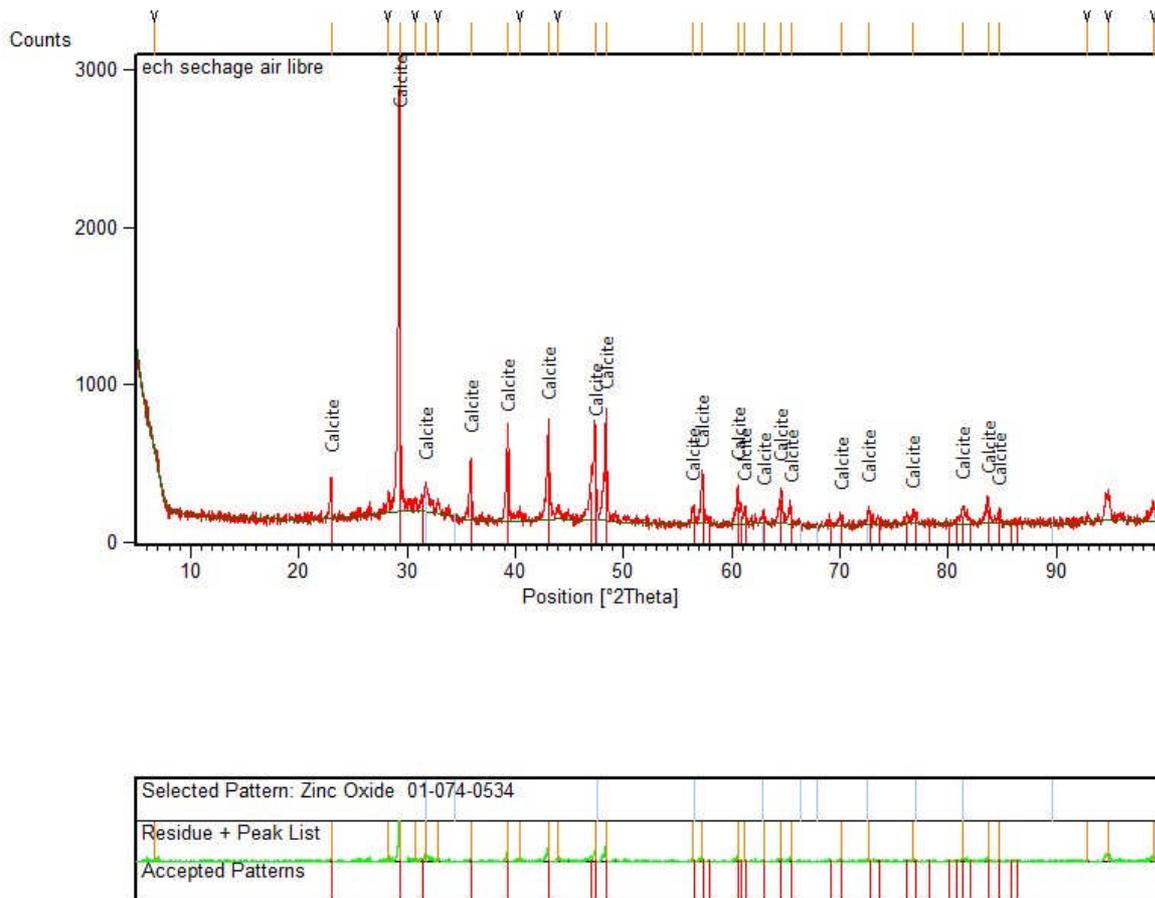


Figure 25: Teneurs moyenne des différents minéraux présents dans les poudres séchées à l'air libre.

L'analyse de diffraction par rayon X de l'échantillon séché à l'air libre a révélé la présence de la calcite en grande quantité avec une différence significative avec les échantillons obtenus par séchage à l'étuve et aux microondes. L'analyse a révélé la même position du pic de diffraction avec une intensité beaucoup plus importante environ 3000, par rapport au séchage à 120 °C et à 900 W. Cela est probablement dû à la température de l'étuve et les radiations des microondes qui exercent une pression sur le matériel végétal pour éliminer plus rapidement l'eau, mais son élimination n'épargne peut être pas les minéraux.

Cependant, une étude antérieure a montré que les minéraux sont mieux préservés lors du séchage à l'étuve 50 °C. (**Musa O'zcan et al., 2004**). Mais Il est important de souligner que l'utilisation de plante d'origine géographique et climatique distinctes ainsi que des méthodes d'extraction et de dosage différentes réduisent la fiabilité d'une comparaison entre les deux études.

II.8. Evaluation de l'activité antioxydante

Pour mieux comparé les techniques de séchage, nous avons étudié l'activité antioxyante en réalisant trois tests: Test au radical DPPH°, le pouvoir réducteur au ferrocyanure de potassium et l'ABTS.

➤ Test au radical DPPH°

L'activité antioxydante de nos extraits est exprimée en IC₅₀, il définit la concentration du substrat inhibant 50% du radical DPPH°. Les résultats obtenus sont illustrés dans la figure suivante.

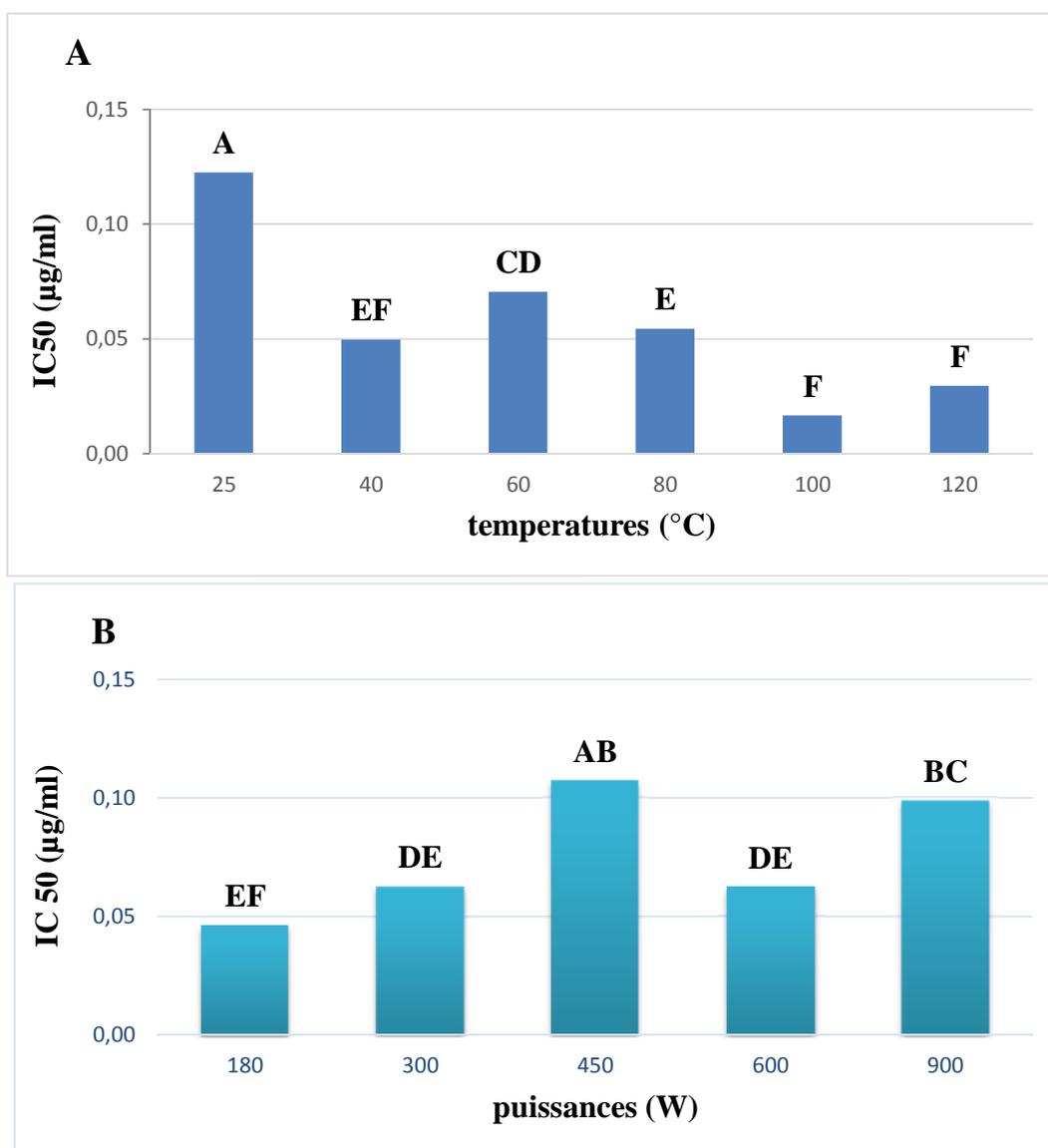


Figure 26 : Activité antiradicalaire au DPPH° des extraits de feuilles de *Laurus nobilis* obtenue par séchage conventionnel et au microonde

Selon les résultats obtenus, le pouvoir de piégeage du radical DPPH°, est important à 100 et 120°C avec un IC₅₀ de 0.030 ± 0.008 et de 0.029 ± 0.005 µg/ml respectivement ($p < 0.05$). Néanmoins on remarque aussi qu'à 25°C le pouvoir de piégeage est très faible avec une valeur d'IC₅₀ 0.122 ± 0.007 µg/ml. Ces résultats ne corrélerent pas avec les teneurs en PPT surtout pour l'échantillon séché à l'air libre qui a montré une forte teneur en PPT. Cela peut être attribué à un effet qualitatif des extraits.

Par ailleurs, Les travaux de **Hayat et al. (2010)** ont montré que la teneur élevée en polyphénols provoque l'association de ces derniers ce qui empêche le DPPH° à accéder à ces composés pour induire l'activité anti-radicalaire.

En comparaison aux résultats obtenus par séchage microonde, les meilleurs pouvoirs d'inhibition sont obtenus avec les échantillons séchés à 180, 300 et 600 W présentant des IC₅₀ de 0.048 ± 0.005 , 0.063 ± 0.006 et 0.062 ± 0.001 µg/ml respectivement. Les extraits présentant une faible activité antioxydante sont ceux obtenus à 450 et 900 W. Ces résultats sont en harmonie avec les résultats de l'analyse phytochimique. En effet, l'échantillon à 900 W présente une faible teneur en flavonoïdes et en tannins par comparaison avec celui de 300 W. Cela, montre qu'il y'a une bonne corrélation entre l'activité anti radicalaire au DPPH et la teneur en polyphénols ce qui est en accord avec les résultats de **Dairi et al. (2014)**.

L'étude statistique a révélé une différence significative ($p < 0.05$) de l'activité anti-radicalaire des extraits obtenus par séchage conventionnel et microonde.

➤ **Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est une analyse de l'activité antioxydante qui est rapide et reproductible et facile à exécuter. Elle est basée sur la capacité des composés phénoliques à réduire le fer ferrique Fe⁺³ en fer ferreux Fe⁺² ; la puissance de réduction est l'un des mécanismes antioxydants (**Karagozler et al., 2008**).

Les résultats représentés dans le tableau IX, montrent l'évolution du pouvoir réducteur des feuilles de *Laurus nobilis*.

Tableau IX : Activité réductrice au ferrocyanure de potassium des extraits obtenus par séchage conventionnel et microondes de *Laurus nobilis*.

Echantillons	Pouvoir réducteur (Abs)			
	D1/2	D1/3	D1/4	D1/6
Puissances(W)				
180	1,191±0.073 ^{bc}	0,860± 0.020 ^f	0,660±0.013 ^{hi}	0,451±0.022 ^{kl}
300	1,480±0.031 ^a	1,021±0.020 ^{de}	0,841±0.012 ^{fg}	0,580±0.006 ^{ijk}
450	1,301±0.064 ^b	0,910±0.017 ^{ef}	0,721±0.017 ^{gh}	0,52±0.007 ^{jkl}
600	1,030±0.019 ^{de}	0,931±0.002 ^{ef}	0,610±0.004 ^{hij}	0,412±0.001 ^l
900	1,130±0.048 ^{cd}	0,830±0.005 ^{fg}	0,651±0.027 ^{hi}	0,441±0.002 ^l
Températures (°C)				
25	1,540±0.017 ^a	1,040± 0.006 ^d	0,840±0.012 ^g	0,521±0.011 ^k
40	1,030±0.005 ^d	0,721±0.009 ^h	0,571±0.008 ^j	0,450±0.005 ^l
60	1,131±0.026 ^c	0,880±0.011 ^f	0,601±0.021 ⁱ	0,46±0.004 ^l
80	1,110±0.006 ^c	0,711±0.012 ^h	0,560±0.007 ^j	0,372±0.001 ^m
100	0,990±0.021 ^e	0,720±0.017 ^h	0,581±0.011 ^{ij}	0,431±0.007 ^l
120	1,400±0.013 ^b	1,051±0.026 ^d	0,721±0.003 ^h	0,441±0.021 ^l

Les résultats montrent que le pouvoir réducteur est proportionnel à la concentration des extraits (un effet dose dépendant). Plus la concentration augmente, plus le pouvoir réducteur augmente. La dilution ½ nous a donné un meilleur pouvoir de réduction. Concernant le séchage microonde on remarque que les puissances 300, 450 et 180 W ont donné une meilleure activité antioxydante qui est de 1.480 ± 0.031 , 1.030 ± 0.064 et 1.191 ± 0.073 respectivement. Cependant l'activité antioxydante la plus faible est attribuée au séchage à 600 et 900 W donnant des valeurs de 1.030 ± 0.019 et 1.130 ± 0.048 respectivement. Ces résultats se corrèlent positivement avec les teneurs en PPT présent dans ces échantillons aussi le test DPPH (surtout pour l'échantillon obtenu à 300 W).

Concernant le séchage conventionnel l'activité antioxydante la plus importante est obtenue lors du séchage à l'air libre et à l'étuve à 120 °C avec des valeurs de $1,540 \pm 0.017$, $1,400 \pm 0.013$ respectivement ce qui est en accord avec leur taux en PPT. Par contre, une comparaison avec le test DPPH révèle que l'échantillon obtenu à l'air libre ne présente pas la même activité antioxydante en utilisant les deux tests utilisés. Ce qui peut confirmer notre précédente hypothèse.

On peut alors en déduire que il y a une corrélation positive avec les concentrations en polyphénols.

➤ **Test au 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) :**

La capacité antioxydante des extraits est évaluée par l'ABTS (Roberta Re *et al.*, 1998). Ce test permet d'apprécier le pouvoir anti oxydant des extraits obtenus par séchage microondes et conventionnel. Les résultats sont représentés dans la figure 27.

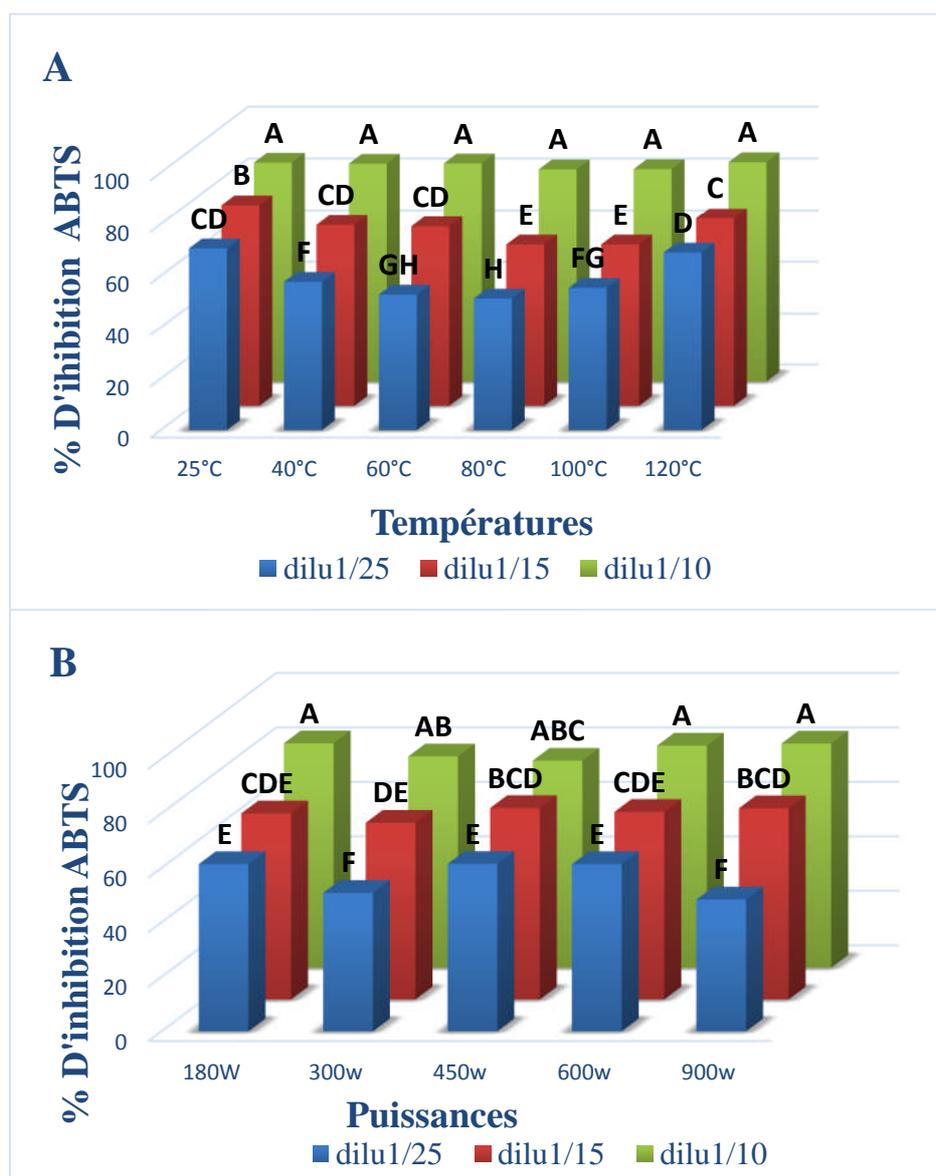


Figure 27 : Pouvoir antioxydant des extraits obtenus par séchage conventionnel (A) et microonde (B) évalué par le test ABTS.

Le test ABTS n'est pas quantitatif, il permet de comparer différents extraits entre eux selon leur capacité à piéger le radical ABTS et ainsi, d'apprécier les variations qualitatives des composés bioactifs. Ceci suggère que les deux températures (25 et 120 °C) possèdent des composés doués d'activité antioxydante élevée au radical ABTS. En comparant avec l'activité antioxydante des extraits obtenus par MO nous avons remarqué que les deux puissances 450 et 900 W présentent une activité remarquable et similaire (non significative) ($p < 0.05$) à celle obtenue par le séchage conventionnel à 25 et 120 °C. Ces variations dans la capacité antioxydante des extraits polyphénoliques de ces deux méthodes de séchage pourraient être dues principalement à la phénoménologie de l'expérimentation.

D'après nos travaux antérieurs sur les feuilles de *Pistacia lentiscus* la tendance en terme de l'activité antioxydante est similaire à celle de la présente investigation (**Arabi et Boucherguine, 2013**).

Conclusion

A travers les siècles, le savoir concernant les plantes s'est organisé, documenté et a été transmis de génération en génération. Aujourd'hui, le recours à la médecine par les plantes connaît un regain d'intérêt. Le présent travail s'intéresse à l'étude comparative des procédés de séchage et l'influence de ces procédés sur la quantité phénolique de *Laurus nobilis* ainsi que son activité antioxydante.

Le résultat des cinétiques de séchage montre que, avec la méthode innovante du séchage assistée par micro-onde, les feuilles de laurier se déshydratent plus rapidement que par la méthode conventionnelle. Avec la plus faible puissance utilisée du micro-onde (180W), il a fallu seulement 8 min pour stabiliser la masse de 5g d'échantillon à 2,88 g, par contre, pour les feuilles séchées à l'air libre (25°C) et avec des basses températures (40°C) de l'étuve, il a fallu 8, 4 jours à 25 et 40 °C respectivement. Pour les fortes puissances du micro-onde (900W) 3 min 50 sec ont été suffisantes pour déshydratées 5 g de feuilles, par contre il a fallu 34 min à 120°C dans étuve.

Pour le dosage des PPT par la méthode colorimétrique et directe, le rendement optimal est attribué au séchage à l'air libre (51,89 mg EAG/g), suivi par 120 °C (51,85 mg EAG/g). Par contre, le séchage avec la méthode innovante assistée par micro-onde le taux le plus élevé est attribué à la puissance de 300W (53,22 mg EAG/g), qui reste supérieur et significatif au seuil de confiance de 95% de celui obtenu à l'air libre et à 120 °C. La même tendance a été constatée dans le cas des flavonoïdes et des tanins.

Concernant l'activité antioxydante, l'étude confirme également une certaine corrélation entre la teneur en substances bioactives et l'activité anti-oxydante mise en évidence.

Toutefois, il serait souhaitable de compléter ce travail avec :

- ✓ Elargir l'échantillonnage pour l'ensemble du territoire national ; et analyser l'impact de l'origine géographique sur la composition en antioxydant et activités biologique ;
- ✓ Optimisation et modélisation des processus de séchage assistés par microonde et conventionnel ;
- ✓ Développement de la technique de prétraitement de séchage assistée par les ultrasons ;
- ✓ Extraction/séparation et optimisation par plan d'expérience la phénoménologie expérimentale ;

- ✓ L'utilisation de techniques d'analyses plus performantes telles que HPLC, LC-MS etc., pour la caractérisation de la teneur en substance d'intérêt, afin de déterminer les meilleures conditions de séchage ;
- ✓ Investigation et application de ces procédés de séchage subdivisés précédemment à l'échelle industrielle ;
- ✓ L'étude de la biodisponibilité des composés phénoliques de *Laurus nobilis*, à fin de prévoir leur effet sur la santé humaine ;
- ✓ L'évaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits étudiés.

Références Bibliographiques

A

- Adrian, J., Frangne R., (1991).** La science Alimentaire de A à Z, Ed. Lavoisier, Paris.
- Alibas, I., (2007).** Microwave, air and combined microwave air-drying parameters of pumpkin slices. *LWT - Food Science and Technology*, 40 (8), 1445-1451.
- Amensour, M., SendraE, Abrinia, J., Perez-Alvarez, J.A, Fernandez-Lopez, J., (2010).** Antioxidant activity and total phenolic compounds of myrtle extracts. *CyTA – Journal of Food* 8(2): 95-101.
- Alesiani D, Pichichero1 E, Canuti L, Cicconi R, Karou D, D'Arcangelo G et A Canini., (2007).** Identification of phenolic compounds from medicinal and melliferous plants and their cytotoxic activity in cancer cells. Italy. *CARYOLOGIA*, 60 (1-2), 90-95.
- Arabia et Boucherguine., (2013).** Mémoire de master, Etude comparative des procédés de séchage en termes de cinétique et de qualité phénolique: Etude phénoménologique. Université de Bejaia.

B

- Ba , K., Tine, E., Destain, J., Cissé, N., Thonart, P.,(2010).** Étude comparative des composés phénoliques, du pouvoir antioxydant de différentes variétés de sorgho sénégalais et des enzymes amylolytiques de leur malt. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 14(1).

Bahorun, (1997). Substances Naturelles actives : La flore mauricienne une source d'approvisionnement potentielle. Université de Maurice. AMAS, Food and Agricultural Research Council, Réduit, Mauritius, 83.

Bahorun T, Gressier B, Trotin F, Brunete C, Dine T, Vasseur J, Gazin JC, Pinkas M, Luycky M, Gazin M., (1996). Oxygen spices scavenging activity of phenolic extract from Hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparation. *Arzneimittel Forschung/ Drug research* 46: 1086-1089.

Barboni, T., (2006). Contribution de méthodes de la chimie analytique à l'amélioration de la qualité de fruits et à la détermination de mécanismes (EGE) et de risques d'incendie. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Corse, 26.

Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., Kingston D.G.I., (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis* L., *Food chemistry* 104: 1487-1484.

Barlow, M.S., (1990). Toxicological aspects of antioxidants used as additives. *Food Antioxidants. New York: Elsevier Science Publishers, 253.*

Beloued A. (2005). Plantes médicinales d'Algérie. Office des publications universitaires. Alger. Pp : 124.

Bessas, A., Benmoussa, L., Kerarma, M., (2007). Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire de fin d'étude pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en biologie.

Bimbenet, J. J., (1984). Le séchage dans les industries agricoles et alimentaires (Cahiers du GIA, SEPAIC.). Paris, France.

Bimbenet, J.-J., et Bonazzi, C., (2003). Séchage des produits alimentaires-Principes. Techniques de l'ingénieur, (F 3000), 14.

Bimbenet, J.-J., Duquenoy, A., et Trystram, G., (2002). Génie des procédés alimentaires: des bases aux applications. Dunod.

Boisot, N., Charpentier, J.P., (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA -Amélioration, Génétique et physiologie forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques (numéro spécial).

Boulekbache M L, Slimani S, Madani K. (2013). Total phenolic content, antioxidant and antibacterial activities of fruits of *Eucalyptus globulus* cultivated in Algeria. *Industrial Crops and Products* 41 : 85– 89.

Brand-Williams W, Cuvelier M. E, Berset C., (1995). Use of free radical method of evaluate antioxidant activity. *LWT*, 28, 25-30.

Bruneton, J., (1993). Pharmiognosie et phytochimie, plantes médicinales, Tec et Doc Lavoisier. Paris, 278-279.

Bruneton, J., (1999). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales, 2eme édition, Paris : Editions médicales internationales, Tec et Doc Lavoisier, 1120.

Buffler, C. R., (1993). Microwave Cooking and Processing: Engineering Fundamentals for the Food Scientist. Aspen Publishers. Newyork, 220.

C

Catherine, B., Jean-Jacques, B., (2008). Séchage des produits alimentaires Appareils et applications. Techniques de l'ingénieur Opérations unitaires du génie industriel alimentaire, base documentaire : TIB430DUO (ref. article : f3002).

Chabaane, L., Tahiri, S., Albizane, A., Krati, ME., Cervera, ML., (2011). De la Guardia M: Immobilization of vegetable tannins on tannery chrome shavings and their use for the removal of hexavalent chromium from contaminated water. Chemical Engineering Journal. 174(1):310-317.

Chemat, F., Tomas, V., Viot, M., (2008). Ultrasound-assisted extraction in food analysis. Handbook of food analysis instrument: 85-103.

Cowan, M., (1999). Plant Products as Antimicrobial Agents. Clinical Microbiology Reviews:564-582.

Copson, D. A., (1975). Microwave Heating. *AVI Publ.Co., Westport, Connecticut*, 285p.

D

Dahmoune, F., Boulekbache, L., Moussi, K., Aoun, O., Spigno, G., Madani, K., (2013).

Valorisation of citrus limon residues for the recovery of antioxydants: Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction.

Dairi, S., Madani, K., Aoun, M., Kee Him, J.L., Bron, P.,Lauret, C., Cristol, J-P and Carbonneau, M-A. (2014). Antioxidative Properties and Ability of Phenolic Compounds of *Myrtus Communis* Leaves to Counteract *In Vitro* LDL and Phospholipid Aqueous Dispersion Oxidation. *Journal of Food Science*, doi: 10.1111/1750-3841.12517.

Daudin, J. D., (1983). Calcul des cinétiques de séchage par l'air chaud des produits biologiques solides. *Sciences des Aliments*, 14 (10), 1-36.

Demir V., Guhan T., Yagcioglu A.K., Ddegirmencioglu A., (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air-dried Bay leaves. *Biosystems Engineering*. 88 (3): 325-335.

Demo A., Petrakis C., Kefalas P., Bosliou D., (1998). Nutrient antioxydants in some herbs and Mediterranean plans leaves. *Food Research international*. 31 (5): 351-354.

Dixon, R.A., Dey, P. M., et Lamb, C. J., (1983). Phytoalexins: Enzymology and molecular biology, *Adv. Enzymol* ,55 : 1-136.

Dong J, Ma X, Fu Z, Guo Y (2011). Effects of microwave drying on the contents of functional constituents of *Eucommia ulmoides* flower tea. *Industrial Crops and Products*, 34(1):1102-1110.

Doymaz, I., Gorel, O., et Akgun, A., (2004)., Drying characteristics of the solide by product of olive oil extraction. *Biosystems engineering*, **88**: 213-219.

Dudonné, Sp., Vitrac, X., Coutière, P., Woillez, M., Mérillon, J-M., (2009). Comparative study of antioxidant properties and total phenolic content of 30 plant extracts of industrial interest using DPPH, ABTS, FRAP, SOD, and ORAC assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *57*(5):1768-1774.

E

Encyclopédie des plantes médicinales, 2001.

Eskilsson, C. S., & Bj. orklund, E., (2000). Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of Chromatography A*, **902**, 227-250.

Edeas, M. (2008). Les polyphénols et les polyphénols de thé. *Phytotherapie*, *5*(5), 264-270.

F

Ferreira A., Proença C., Serralheiro M.L.M., Araújo M.E.M. (2006). The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J. Ethnopharmacology*. *108*: 31-37.

G

Ghanem, N., Mihoubi, D., Kechaou, N., Boudrioua Mihoubi, N., (2012). Microwave dehydration of tress citrus peel cultivars: effect on water and rotection capacities, color, shrinkage and total phenols content. 40: 167-177.

Gardeli, C., Papageorgiou, V., Mallouchos, A., Theodosis, K., et Komaitis, M., (2008). Essential oil composition of Pistacia lentiscus L. and Myrtus communis L.: evaluation of antioxidant capacity of methanolic extracts. Food Chem. **107**: 1120–1130.

Gomez-Caravaca, A. M., Gomez-Romero, M., Arraez-Roman, D., Segura-Carretero, A., Fernandez-Gutierrez, A., (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. J Pharmaceutical and Biomedical Analysis. **41**: 1220-1234.

Guingard, J., (1996). Biochimie végétale, Ed. Lavoisier, Paris, p 175-192. UE PHR.

H

Hayat, K., Zhang, X., Chen, H., Xia, S., Jia, C., Zhong, F. (2010). Liberation and separation of phenolic compounds from citrus mandarin peels by microwave heating and its effect on antioxidant activity. *Separation and Purification Technology*,

Hoffmann, L., Besseau, S., Geoffroy, P., Ritzenthaler, C., Meyer, D., Lapierre, C., Pollet, B., (2004). Legrand M: Silencing of hydroxycinnamoyl-coenzyme A shikimate/quinat hydroxycinnamoyltransferase affects phenylpropanoid biosynthesis. The Plant CellOnline. 16(6):1446-1465.

Hossain MA, Bala BK, Satter MA., (2003). Simulation of natural air drying of maize incribs. *Simulation Modelling Practice and Theory*, 11(7–8):571-583.

I

Iserin, P., (1996). Encyclopédie des plantes médicinales. LAROUSSE, Paris, 336.

Iserin, P., (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. 2^{ém} édition Larousse. Londres Pp 143 et 225-226.

J

Jean, V., (2011). Séchage Industriel : Principes et calcul d'appareils autres modes de séchage que l'air chaud (partie1). Techniques de l'ingénieur opérations unitaires : évaporation et séchage, base documentaire : TIB 316 DUO (ref.articlé : j2453).

Jean-Jacques B., Catherine B., (2003). Séchage des produits alimentaires Principes Techniques de l'ingénieur Opérations unitaires du génie industriel alimentaire, base documentaire : TIB430DUO (ref. article : f3000).

K

Kansole, M.M.R., (2009). Etude ethnobotanique, phytochimique et activités biologiques de quelques *lamiaceae* du Burkina Faso: cas de *Leucas martinicensis* (Jacquin) R. Brown, *Hoslundia opposita* Vahl et *Orthosiphon pallidus* Royle ex Benth. Mémoire pour obtenir un diplôme Diplôme d'Etudes Approfondies (D.E.A) en Sciences Biologiques Appliquées, Burkina Faso.

Karagozler, A., Erdag, B., et Calmaz Emek, Y., (2008). Antioxydant activity and proline content of leaf extracts from *Dorystoechas hastate*, *Food Chemistry*, **111**: 400-407.

Karim, A., Sabah, M., Tamara, A., (2012). Swell-drying: séchage et texturation par DIC des végétaux .Techniques de l'ingénieur Opération unitaire de génie industriel alimentaire, base documentaire : TIB430DUO (ref.article : f3005).

Ketata M, Boudhrioua N, Ammar E, Kechaou N., (2010): Etude Du Séchage Par Micro-Ondes Et Des Isothermes De Sorption Des Feuilles De *Pelargonium Graveolens* D'origine Tunisienne Et Marocaine. *Food Chemistry*, 125(3):851-858.

Khalil, M.Y., Moustafa, A.A., et Naguib, N.Y., (2007). Growth, phenolic compounds and antioxidant activity of some medicinal plants grown under organic farming conditions. *World Journal Of Agricultural Sciences*. **3**(4):451-457.

Khenouf S, Iratni N, Baghniani A, Mrzallah D, and Arrar L., (2010) : Antioxydant and antibacterial activities of extracts from *Artemisia herba alba* A sso. Leaves and some phenolic compounds. *Journal of medecinl plantes research* 4 (13) : P 1273-1280.

Kivçak, B. and Akay, S., (2005). Quantitative determination of α -tocopherol in *pistacia lentiscus*, *Pistacia lentiscus* var .chia, and *Pistacia tserebinthus* by TLC-densitometry and colorimetry.*Fitoterapia*, 76:62-66.

Kivçak, B and Mert, T (2002). Preliminary evaluation of cytotoxic proprieties of *Laurus nobilis* leaf extracts. *Fitoterapia.*, 73:242-243.

L

Lebham, (2005). Thèse au laboratoire d'Ecophysiologie et de Biotechnologie des Halophytes et des Algues au sein de l'Institut Universitaire Européen de la Mer. (IVEM). Université de Bretagne Occidentale (UBO).

Lewicki PP., (2004) : DRYING. In: *Encyclopedia of Meat Sciences*. Edited by Editor-in-Chief: Werner Klith J. Oxford: Elsevier: 402-411.

Lhuillier, (2007). Contribution a l'étude phytochimique de quatre plantes malgaches : *Agauria salicifolia* Hook.f ex Oliver, *Agauria polyphylla* Baker (*Ericaceae*),

Li, Z., Raghavan, G.S.V., et Orsat, V., (2010). Temperature and power control in microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 97(4), 478-483.

Lichtenthaler, H.K. (1982). Synthesis of prenyllipids in vascular plants (including chlorophylls, carotenoids, prenylquinones). In *CRC Handbook of Biosolar Resources*, vol. I, part I: Basic principles (A. Matsui and C.C.Black, eds.) pp.405-421. CRC Press, Boca Raton, Fla.

Linden, G., et Lorient, D., (1994). Biochimie agro-industrielle : valorisation alimentaire de la production agricole. Paris -Milan-Barcelone: Masson. pastel-00771870, version 1-9 Jan 2013.

Liu, Z. Y., Hu, X. L., Bu, F. Q., Ding, L. et Zhang, H. Q., (2007). Studies on the chemical change in the process of microwave-assisted extraction of flavonoids from *Acanthopanax senticosus* harms. *Chemical Journal of Chinese Universities*, **28**: 431-435.

Lois, R., (1994). Accumulation of UV-absorbing flavonoids induced by UV-B radiation in *Arabidopsis thaliana* L. I. Mechanisms of UV resistance in *Arabidopsis*, *Planta*; **194**: 498-503.

M

Maskan M., (2001): Kinetics of colour change of kiwifruits during hot air and microwave drying. *Journal of Food Engineering*, 48(2):169-175.

Mafart.P., (1996) : Génie Industriel Alimentaire, Les Procédés Physiques de Conservation, Technique et Documentation. edn. Paris: Larvoise.

Mojca, Škerget., Petra, Kotnik., Majda, Hadolin., Andreja, Rižner Hraš., Marjana, Simonič., Željko, Knez., (2005). Phenols, proanthocyanidins, flavones and flavonols in some plant materials and their antioxidant activities. 89:191-198.

Michel S, Jean-Yves A, Benoit L., (2003) : Extraction assistée par micro-ondes. Techniques de l'ingénieur opérations unitaires du génie industriel alimentaire, base documentaire : TIB 430 Duo (ref ; article : F (3060)).

Milane, H., (2004). La quercétine et ses dérivés : molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres, études et applications thérapeutiques. Thèse en vue de l'obtention du grade de docteur en science. Université Louis Pasteur. Strasbourg.

Medic Sanic, M., Jasprica, I; Smolcic Bubalo, A., et Mornar, A., (2004). Optimization of chromatographic conditions in thin layer chromatography of flavonoides and phenolic acids, Croatica Chemica Acta, p 361-366.

Meddleton, E; Kardasnam, J.C., (1993). The flavonoids Advances. In: research since 1986. J B Harborne, Chapman and Hall, London,p 617-652 .

Musa, Özcan., Derya, Arslan., Ahmet, Ünver., (2005). Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.), 69: 375-379

N

Nuray, Koca., Feryal, Karadeniz., Hande, Selen Burdurlu.,(2006). Effect of pH on chlorophyll degradation and colour loss in blanched green peas. 100:609-615.

O

Özcan, E., (2006) Ultrasound assisted extraction of phenolics from grape pomace. The graduate school of natural and applied sciences of Middle East technical university. 66.

P

Paris R. et Moyse M. (1965) : Précis de matière médicale. *Edit. Masson. Paris.* 412 p

Pan P, Me C, Wang M, Ji V, Wang K, Liu P., (2010): antioxidant activity of microwave assisted extract of *Budellia officinalis* and its major active compounds. *Food chem.* 121, 497-502.

Perkin, R. M., (1980). The heat and mass transfer characteristics of boiling point drying using radio frequency and microwave electromagnetic fields. *International Journal of Heat and MassTransfer*, 23(5), 687-695.

Punchard, N.A., Kelly, F. J., (1996). Free Radicals: A practical approach. *New York: Oxford University Press.*

Q

Quezel, P., et Santa, S., (1963). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionale. Tome II Edition. CNRS. Paris.

Quezel P. et Santa S., (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p.

R

Ribereau-Gayon., (1968). Propriétés chimiques des phénols. IN « Les composés phénoliques des végétaux ». Edition Dunod : 29-27.

Ribereau-Gayon PP., (1982): Incidences oenologiques de la pourriture du raisin 1. EPPO Bulletin 12, (2): 201-214.

Rice-Evans, (1995). The relative antioxidant activities of plant-derived polyphenolic flavonoids, *Free Rad. Res.*, 22: 375-383.

Roberta, R., Nicoletta, P., Anna P., Ananth P., Min Y. And Catherine, R., (1998). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation depolarization assay. *Free Radical Biology & Medicine.* 9(10), 1231-1237.

Rougier, C., (2003). Etude des interactions entre la bactérie *Escherichia coli* et les microondes appliquées en mode discontinu dans des conditions faiblement thermiques. Thèse de l'Université de Limoges.

S

Scaman, C. H., & Durance, T. D., (2005). Combined Microwave Vacuum-drying. *Emerging Technologies for Food Processing* (p. 507-533). London: Academic Press.

Sarni-Manchado, P., et Cheynier, V., (2006). Les polyphénols en agroalimentaire. *Edition science et technologie.* 266-26.

Sayyah M., Valizadeh J., Kamalinejad M. (2002). Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylentetrazole. *Phytomedicine*. 9 : 212-216.

Schauenbeg, P., et Paris, F., (1977). Guide des plantes médicinales Analyse, description et utilisation de 400 plantes. ISBN: 2-603-00001-2, pp: 330.

Shon, M-Y, Kim, T-H, Sung, N-J., (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. *Food Chemistry*. **82**: 593–597.

Simi M., Kundakovi T., Kovaevi N. (2003). Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*. 74: 613-616.

Singh, R. P., & Heldman, D. R., (2001). *Introduction to Food Engineering, Third Edition*. London UK: Academic Press

Sosa-Morales, M. E., Valerio-Junco, L., Lopez-Malo, A., & Garcia, H. S., (2010) Dielectric properties of foods: Reported data in the 21st Century and their potential Applications. *LWT - Food Science and Technology*, 43(8), 1169-1179.

Singleton, V.L, Rossi, J.A., (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *Am.j.End. Vitic* 16, 144-158.

T

Tomas –Barbera, F. A. et Espin, J. C., (2001). Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of food and Agriculture*, 81:853-876.

Υ

Yakhlef, G., Laroui1, S., Hambaba, L., Aberkane, M. C., Ayachi, A., (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle, 9:209-218.

Yao K, De Luca V, Brisson N., (1995). Creation of a metabolic sink for tryptophan alters the phenylpropanoid pathway and the susceptibility of potato to *Phytophthora infestans*. *The Plant Cell Online*. 7(11):1787-1799.

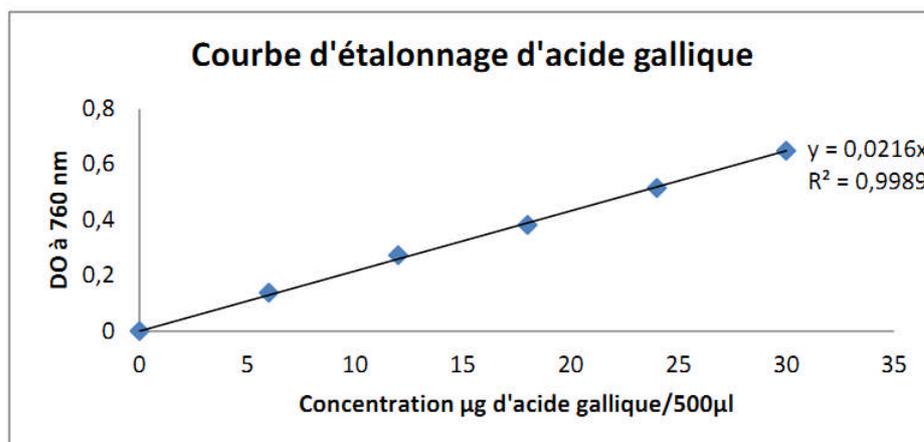
Yokozawa T., Chen CP., Dong E., Tanaka T., Nonaka G-I., Nishioka I., (1998). Study on the inhibition effet of tannins and flavonoids against the 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl radical. *Biochemical pharmacology*. 56(2): 213-222.

Z

Zhang, H. F., Wang, Y., & Zhang, H. Q., (2007). Apparatus for ultrasound and microwave assisted extraction with temperature. *Regulator*. Chinese Patent ZL200720086099.7.

Annexes

Annexe 1 : Courbes d'étalonnage



Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

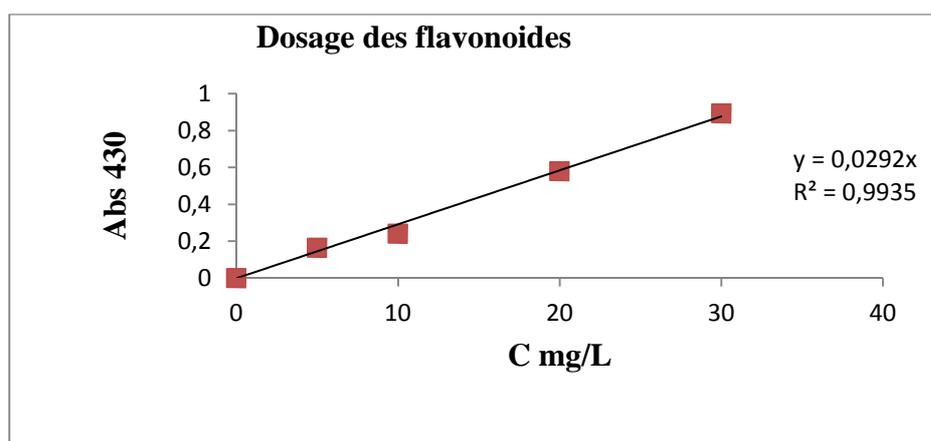


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la rutine.

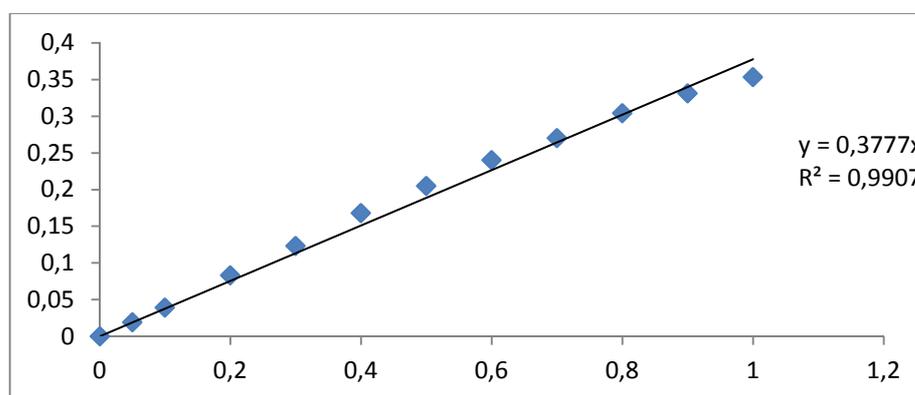


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de la catéchine.

Résumé

Laurus nobilis est l'arbuste méditerranéen étudié de par le temps par de nombreux chercheurs en raison de ses vertus thérapeutiques, nutritionnelles et ornementales. Cependant, l'industrie pharmaceutique est toujours en quête d'innovations de produits et de procédés.

Dans cette présente investigation, une étude comparative a été réalisée entre deux méthodes de séchage. Une méthode innovante par micro-ondes (de 180 à 900W), et une méthode conventionnelle (air libre et étuvage de 40 à 120 °C). Des cinétiques de séchage ont été réalisées en fonction de la perte de masse au cours du temps. La composition phytochimique, minérale ainsi que l'activité anti-oxydante des différents échantillons ont été analysées. Les cinétiques étudiées ont montré que la stabilité du poids des échantillons est atteinte plus rapidement avec le séchage micro-ondes (900 W/ 210 s), suivie par le séchage à l'étuve (120 °C/2040 s).

La méthode du Folin-Ciocalteu et l'indice des polyphénols (à 280 nm) ont montré un rendement optimal en Polyphénols totaux (PPT) pour l'échantillon séché à l'air libre, suivi par celui à 120 °C. Cependant, le procédé par ondulation a donné la teneur la plus élevée en PPT (à la puissance de 300 W) par comparaison au séchage conventionnel. L'étude de l'activité antioxydante a confirmé, également l'efficacité du procédé développé.

La méthode de séchage assistée par micro-onde est recommandée pour la préparation rapide, économique et fiable des matrices contenant des substances à haute valeur ajoutée.

Mots-clés : *Laurus nobilis*, cinétique de séchage, micro-onde, activité antioxydante.

Abstract

Laurus nobilis is the Mediterranean shrub studied through time by many researchers due to its therapeutic, nutritional and ornamental qualities. However, the pharmaceutical industry is always looking for product and processes innovations.

In the present investigation, a comparative study was conducted between two drying methods. An innovative method by microwave (180 to 900W), and a conventional method (air drying and stoving from 40 to 120 °C). Kinetic drying were performed according to the mass loss over time. The phytochemical and mineral composition as well as the antioxidant activity of the different samples were analyzed. Kinetic studied showed that weight stability of sample is faster reached by Microwave drying (900 W / 210 s), followed by oven drying (120 °C/2040 s).

The Folin-Ciocalteu method and polyphenols index (at 280 nm) showed TPC optimum yield from open air dried sample, followed by 120 °C. However, the process by waving gave the highest TPC content (for 300 W) compared to conventional drying. The antioxidant activity study confirmed also the efficiency of the developed method.

Microwave-assisted drying method is recommended for fast, economical and reliable preparation of matrices containing high added-value compounds.

Keywords: *Laurus nobilis*, drying kinetics, microwave, antioxidant activity.