

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université A. MIRA – BEJAIA
Faculté de Technologie
Département de Génie des Procédés



En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER

En Génie des Procédés

Option : Génie Alimentaire

Thème

Détermination de la composition en antioxydants et en minéraux des extraits de quelques épices. Optimisation par la méthode des plans d'expériences.

Etudiantes

AitBraham Ouardia

Boubekeur Sara

Encadreurs

Dr Kachbi Abdelmalek

Pr Senhadji Ounissa

Promotion 2018-2019

Remerciements

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements tout d'abord au bon Dieu le tout puissant de nous avoir accordé santé et courage pour accomplir ce travail. Nous tenons à remercier très chaleureusement notre promoteur **Mr A. Kachbi**, notre guide par excellence, qui a accepté de nous encadrer, aussi bien pour ses conseils, sa disponibilité, son soutien, son aide, son orientation et surtout pour sa patience, soyez assuré, monsieur, de notre estime et de notre profond respect.

Nous tenons à remercier **Mme Senhadji** qui nous a bénéficié de son savoir scientifique.

Nos profonds remerciements s'adressent aussi aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger ce travail.

Nous remercions également l'équipe de laboratoire LPMTSR, madame **Mokhtari Fouzia**, ingénieur de laboratoire, et madame **Benamor Kahina**, technicienne de laboratoire qu'elles nous facilité la mise en œuvre. Sans oublier à remercier nos enseignants qui ont assistés a notre formation.

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements, par leur énormes sacrifices, qu'ils m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé me voire réussir.

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse
Ma mère

A mon père, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.
Que Dieu les gardes et les protèges.

A mes adorable sœurs : LIZA, DISSA, ZOUINA
A mon très cher frère : YANI

A Ma chère amie et binôme Ouardia qui a partagé ce travail avec moi.

A toute ma famille.

SARA

Dédicaces

Je dédie ce travail

A mes chers parents qui m'ont éclairé le chemin de la vie par leur grand soutien et leurs encouragements, par leur énormes sacrifices, qu'ils m'ont consentis durant mes études et qui ont toujours aimé me voire réussir.

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse
Ma mère

A mon père, qui a été mon ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.
Que Dieu les gardes et les protèges.

A mes chère frères Yacine, Karim, et Noureddine qui mon toujours soutenus et toujours étaient présent avec moi.

A mes chers grands parents que dieu les gardes et les protéger
Aux épouses de mes frères : Ouardia et Hanane.

A Ma chère amie et binôme Sara qui a partagé ce travail avec moi.

A toute ma famille et toutes mes amies.

Ouardia

Liste d'abréviations, figures, et tableaux

Liste des abréviations

Listes d'abréviations

Cm : Concentration massique de la matière sèche

DPPH : Di Phényl Picryl Hydrazyl

EAG : Equivalent D'acide Gallique

EQ : Equivalent Quercétine

FC : Folin-Ciocalteu

FT : Flavonoïdes Totaux

ICP : Induction à Couplage Inductif

JC : Jésus Chris

NS: Non Significatif

PE : Plan d'Expérience

PT : Polyphénols Totaux

S : Significatif

TFT : Teneur en Flavonoïdes Totaux

TPT : Teneur en Polyphénols Totaux

UV : Ultra Violet

Liste des figures

Figure 1 : Aspect de quelques épices.....02

Figure 2 : La différence entre épices, condiments et aromates.....04

Figure 3 : Structure du noyau phénol.....08

Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.....10

Figure 5 : Schéma de principe de l'extraction par infusion.....13

Figure 6 : Appareil UV-visible.....14

Figure 7 : Les différents composants du spectromètre UV-visible.....15

Figure 8 : Schéma de l'appareillage d'un spectromètre ICP.....17

Figure 9 : Domaine de variation du facteur.....18

Figure 10 : Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse.....19

Figure 11 : Etapes de dosage des polyphénols totaux.....30

Figure 12 : Etapes de dosage des flavonoïdes totaux.....32

Figure 13 : Réaction de test DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl).....34

Figure 14 : étapes du test de DPPH.....34

Figure 15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.....37

Figure 16 : Teneur des polyphénols totaux (mg EAG/100 g de matière sèche).....38

Figure 17 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.....39

Figure 18 : Teneur en flavonoïdes totaux (mg EQ/100 g de matière sèche).....39

Figure 19 : Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des polyphénols totaux.....41

Figure 20 : les IC50 des différents extraits.....42

Liste des tableaux

Tableau 1 : classification de quelques épices selon la partie utilisée de la plante.....	03
Tableau 2 : Description des épices étudié.....	07
Tableau 3 : Classification des épices sélectionnées.....	26
Tableau 4 : Les réactifs utilisés lors des expériences.....	28
Tableau 5 : Concentration des étalons de l'acide gallique.....	31
Tableau 6 : Concentration des étalons de quercétine.....	33
Tableau 7 : Valeurs extrêmes des paramètres opératoires étudié.....	35
Tableau 8. Matrice X correspondant au modèle du 2 ^{eme} degré (plan composite centré, isovariant par rotation, de précision uniforme).....	35
Tableau 9 : Les absorbances correspondantes aux étalons de l'acide gallique.....	37
Tableau 10 : Les absorbances correspondantes aux étalons de la quercétine.....	39
Tableau 11 : Matrice d'expérience du plan factoriel complet à deux niveaux (modèle du 1 ^{er} degré) et du plan composite centré (isovariant par rotation, de précision uniforme)	43
Tableau 12 : Réponses (TPT et TFT) des différents extraits épices.....	44
Tableau 13: Coefficient du modèle linéaire complet avec signification de chaque coefficient	46
Tableau 14 : Résultats de la validité du modèle - Recherche d'un biais.....	47
Tableau 15 : Signification globale de la régression.....	48
Tableau 16 : Calcul des écarts pour les points déjà réalisés pour le modèle linéaire	48
Tableau 17 : Coefficient du modèle quadratique complet avec signification de chaque coefficient	49
Tableau 18 : Coefficient du modèle linéaire avec signification de chaque coefficient.....	51
Tableau 19 : Validité du modèle - Recherche d'un biais.....	53
Tableau 20 : Signification globale de la régression	54
Tableau 21 : Calcul des écarts pour les points déjà réalisé.....	54

Liste des tableaux

Tableau 22 : Coefficient du modèle quadratique complet avec signification de chaque coefficient.....	55
Tableau 23 : Coefficient du modèle linéaire	57
Tableau 24 : Validité du modèle - Recherche d'un biais	59
Tableau 25 : Signification globale de la régression	60
Tableau 26 : Calcul des écarts pour les points déjà réalisés pour le modèle linéaire	60
Tableau 27 : Coefficient du modèle quadratique complet avec signification de chaque coefficient	62
Tableau 28 : Teneur des épices en métaux (μg Métal/g Matière sèche).....	64

SOMMAIRE

Remerciement	
Dédicace	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction générale.....	01
Chapitre I. Synthèse bibliographique	
I.1. Généralités sur les épices.....	02
I.1.1. Définition des épices.....	02
I.1.2. Historique des épices	02
I.1.3. Classification des épices	03
I.1.4. Particularité des épices.....	04
I.1.5. Utilisations des épices	05
I.1.6. Présentation des épices étudiés	07
I.2. Les composés phénoliques	08
I.2.1. Les flavonoïdes	09
I.2.2. Le Pouvoir antioxydant.....	10
I.3. Extraction solide-liquide.....	12
I.3.1. Extraction par infusion.....	12
I.4. Méthodes d'analyses.....	13
I.4.1. Spectrométrie UV-visible.....	13
I.4.2. Spectrophotométrie d'émission par plasma (ICP)	15
I.5. Plans d'expériences.....	17
Chapitre II. Matériels et méthodes	
II.1. Appareillages et logiciels utilisés.....	25
II.2. Matériels et produits chimiques.....	25
II.3. Prétraitements du matériel végétal.....	28
II.4. Préparation des solutions	29
II.5. Quantification et dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes.....	29
II.5.1. Dosage des polyphénols totaux.....	29
II.5.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	31

II.5.3.Evaluation de l'activité antioxydant.....	33
II.6.Application du plan d'expérience.....	35
II.7.Analyse des métaux dans les extraits d'infusion d'épices.....	36

Chapitre III. Résultats et discussions

III.1.Dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes totaux.....	38
III.1.1.Dosage des polyphénols totaux.....	38
III.1.2.Dosage des flavonoïdes totaux.....	39
III.1.3.Mesure du pouvoir antioxydant.....	41
III.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences	43
III.3. Analyse par spectrométrie d'émission par plasma (ICP).....	64
Conclusion générale.....	65

Références bibliographiques

Introduction générale

Introduction générale

Depuis l'antiquité, l'humanité a utilisé diverses ressources trouvées dans son environnement afin de traiter et soigner toutes sortes de maladies. Les épices sont classées parmi les plantes médicinales lorsqu'au moins une partie possède des propriétés curatives ou préventives d'une ou plusieurs maladies. Ce sont des parties de plantes aromatiques à la saveur forte ou des préparations, utilisées en petites quantités en cuisine comme conservateur, assaisonnement ou colorant.

Ces épices renferment de nombreux principes actifs ou métabolites secondaires, qui sont largement utilisés en thérapeutique, comme des agents préventifs. Parmi ces métabolites, on trouve les composés phénoliques (polyphénols totaux) qui constituent une richesse largement exploitée par les industries agro-alimentaire, cosmétique et pharmaceutique [1, 2].

L'extraction des composés phénoliques est une étape très importante pour leur identification, il existe plusieurs méthodes d'extraction de ces derniers (infusion, décoction, macération,...) [3]. Nous avons choisi comme méthode d'extraction : l'infusion en utilisant les plans d'expériences.

Plusieurs facteurs influents sur l'extraction des polyphénols totaux et flavonoïdes totaux par infusion. Nous avons choisi d'étudier trois facteurs qui sont : la concentration massique (la masse de la matière sèche par unité de volume d'eau), le temps et la température par les plans d'expériences.

L'évaluation du pouvoir antioxydant des différents extraits d'épices étudiées peut se faire par plusieurs tests, nous avons choisi : la capacité à piéger le radical DPPH.

La détermination des éléments métalliques a été effectuée par la spectroscopie ICP.

Nous avons entrepris ce travail qui est divisé en trois chapitres :

- Le premier chapitre est une synthèse bibliographique, qui aborde des généralités sur les épices, les polyphénols, les flavonoïdes, l'activité antioxydante, les techniques d'analyses (UV-visible et ICP) et une méthode d'extraction solide-liquide (infusion). Nous avons terminé ce chapitre par la méthode des plans d'expériences.
- Le deuxième chapitre est consacré aux matériels et aux procédures expérimentales.
- Le troisième et dernier chapitre présente l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus au cours de cette étude.

Chapitre I
Synthèse bibliographique

CHAPITRE I

Synthèse bibliographique

I.1. Généralités sur les épices

I.1.1. Définition des épices :

Le mot « épice » provient du mot latin « species », signifiant espèce ou substance [4].

Les épices sont des parties de plantes aromatiques à la saveur et odeur plus ou moins fortes ou piquantes, Elles sont utilisées en petite quantité en cuisine comme conservateur, assaisonnement ou colorant. Un grand nombre d'épices étaient employé autrefois en médecine [5].

Le terme « épice » s'applique aux produits naturels végétaux ou mélanges de ceux-ci, sans matières étrangères qui sont utilisés soit en entier soit en poudre pour donner de la saveur et de l'arôme et pour assaisonner les aliments [4].

Le traitement des épices après la récolte est recommandé afin de conserver le plus possible leur gout naturel. Les épices sont devenues aujourd'hui des denrées banales, elles contiennent beaucoup de vitamines et de minéraux. On les utilise pour leurs qualités gustatives mais aussi pour leurs vertus médicinales [1].



Figure 1 : Aspect de quelques épices

I.1.2. Histoire des épices :

L'origine des épices commence sur la cote de malabar au sud-ouest de l'inde environ 4000 ans avant J-C (jésus christ).

La plupart des épices proviennent de l'Inde et de l'Indonésie actuelle ou règne un climat équatorial et de mousson. Il se caractérise par un taux d'hygrométrie important et une chaleur très élevées durant toute l'année ce qui explique pourquoi ces régions abritent beaucoup plus d'espèces de végétaux que des zones situées plus au sud ou plus au nord. Ainsi, l'Amérique Centrale et le nord de l'Amérique du Sud sont aussi à l'origine de plusieurs épices comme la vanille et le piment [6].

Au XVII^e siècle, les épices étaient moins chères, plus accessibles et de ce fait moins utilisées par les riches car elles n'étaient plus considérées comme un objet de noblesse. A la fin du XVII^e siècle, des épices, des fruits et de l'ail étaient mis en bouteille avec du vinaigre pour améliorer leur préservation [4].

Au XX^eème siècle, avec l'industrialisation, le commerce de masse, le développement des voyages et les flux migratoires, les épices inondent les marchés occidentaux aussi largement que les marchés asiatiques ou africains. . Aujourd'hui les épices font partie de notre vie quotidienne [7].

I.1.3. Classification des épices

Il est difficile de sélectionner des critères de classification des épices. Celles-ci appartiennent à différentes familles végétales, et au sein de ces familles, différentes parties de plantes peuvent donner des épices [8].

On peut donc classer les épices selon la partie de la plantes dont elles sont tirées, ainsi elles peuvent provenir des graines, des fleurs, des fruits, des racines ou du bois (comme nous montre le tableau suivant) [6].

Tableau 1 : Classification de quelques épices selon la partie utilisée de la plante [9].

Nom(s) commu(s)	Nom botanique	Partie de la plantes utilisée
Premier groupe : Epices fortes		
Poivre noire et blanc	<i>Piper nigrum</i>	Fruit
Poivre de cayenne et tabasco	<i>Capsicum frutescens</i>	Fruit
Piment et paprika	<i>Capsicum annum</i>	Fruit
Clous de girofle	<i>Eugenia caryophyllus</i>	Fleur
Gingembre	<i>Zingiber officinale</i>	Rhizome
Deuxième groupe : Fruits et graines aromatiques		
Muscade et macis	<i>Myristica fragrans</i>	Graine (amande+arille)

Piment toute-épice	<i>Pimento dioica</i>	Fruit
Anis	<i>Pimpinelle anisum</i>	Fruit
Fenugrec	<i>Trigonella foenumgraecum</i>	Graine
Coriandre	<i>Coriandrum sativum</i>	Fruit
Cumin	<i>Cuminum cyminum</i>	Fruit
Troisième groupe : Ecorces aromatiques		
Cannelle	<i>Cinnamomum zeylanicum</i>	Ecorce
Casse	<i>Cinnamomum cassia</i>	Ecorce
Quatrième groupe : Epices colorées		
Paprika	<i>capsicum annuum</i>	Fruit
Curcuma	<i>Curcuma domestica,</i> <i>Curcuma longa</i>	Rhizome

I.1.4. Particularité des épices

Quelles différences entre épices, condiments et aromates ? Les épices sont souvent obtenues après séchage de la plante et/ou transformation (fermentation, blanchiment, stabilisation), contrairement aux aromates, qui sont généralement consommés tels quels sans aucune transformation afin de parfumer les aliments. L'assaisonnement « aromatique » est souvent plus doux, le goût est alors beaucoup moins relevé que celui des épices au caractère plus affirmé. Quant aux condiments, ils servent également à accompagner les plats, la différence essentielle tenant au traitement culinaire préalable à l'usage : ils peuvent se présenter en conserve, sous leur forme naturelle, ou préparés en pâte ou sauce (ketchup, moutarde) [4].



Condiments

Aromates

épices

Figure 2 : La différence entre épices, condiments et aromates

I.1.5. Utilisations des épices :

❖ Utilisation nutritionnel :

On utilise les épices comme aromates, essentiellement végétales, pour l'assaisonnement, la coloration et la conservation des aliments ou des boissons [5].

Les épices apportent de la variété et du goût aux denrées de base et aux sauces, ce qui excite l'appétit et permet de manger plus, elles sont utilisées en petites quantités et elles ne contribuent pas, d'un point de vue nutritionnel, au régime alimentaire, mais elles contiennent souvent des composés phénoliques qui permettent de protéger les denrées contre la dégradation microbienne. Toutefois, des épices séchées de manière incorrecte ou entreposées dans de mauvaises conditions peuvent elles-mêmes être contaminées par des champignons ou des aflatoxines [9].

Les épices sont des substances dont la valeur nutritive directe est négligeable, ils interviennent seulement pour relever la saveur et modifient certains caractères sensoriels. Les doses excessives des épices peuvent avoir des effets nocifs, de même elles sont contre indiquées dans une série de maladies gastrites, néphropathies etc.... [10].

❖ Utilisation médicinal :

Depuis longtemps, les épices représentent une part importante de la nourriture humaine. A côté des fibres alimentaires et des vitamines, on a récemment identifié, dans les fruits, légumes et épices, d'autres composés comme les phénols et les flavonoïdes qui pourraient avoir des bénéfices pour la santé. En effet, à côté de leurs fonctions dans la plante comme protecteurs contre les agresseurs de l'environnement, on attribue à ces composés des fonctions salutaires pour l'homme, comme la réduction du risque de maladies vasculaires et cardiaques. C'est pourquoi ces dernières années ont été marquées par la recherche d'antioxydants naturels ou d'extraits [4].

Certaines épices facilitent la digestion des mets lourds, soit par les tanins contenus qui favorisent la sécrétion biliaire, soit parce qu'elles contiennent des lipases ou des protéases qui pré-digèrent les aliments qu'elles accompagnent [8].

❖ Utilisation en cosmétique :

Tout comme la cuisine, la cosmétique fait aussi ses délices des nombreuses épices, et la peau se satisfait souvent des arômes relevés (et bien tonifiants) que forment leurs bouquets dans nos crèmes...

On ne les trouve pas toutes, bien sûr, dans les formules de nos produits de soin, mais nombre d'épices, en poudres ou sous forme d'huiles essentielles, y entrent avec bonheur et pour deux raisons : leurs parfums, bien tonifiants, et leurs actifs, très divers et souvent bienfaisants, fortement marqués par leurs propriétés anti-oxydantes, aux effets anti-radicalaires, anti-âge [9].

I.1.6. Présentation des épices étudiés

Tableau 2 : Description des épices étudié.

Epices	Description
<p style="text-align: center;">Coriandre</p> 	<p>La coriandre est un arbre annuelle dressée très aromatique, atteint une hauteur de 30 à 90 cm. Indigène du bassin méditerranéen et du sud de l'Europe.</p> <p>Les feuilles sont vert clair et luisantes, les fleurs sont minuscules blanche, rose ou violette, regroupées en embelles. Les graines succédant aux fleurs, sont petites, sphériques et côtelées, parfumés avec une note poivrée [11].</p>
<p style="text-align: center;">Poivre noir</p> 	<p>Le poivre noir est une plante grimpante et vivace de 8 à 10 m [12]. originaire d'Inde. Il est obtenu à partir de baies parvenue presque à maturité de poivrier [13].</p> <p>Il se présente sous forme de grains sphériques, de la grosseur d'un très petit pois ; sa pellicule extérieure est brune-noirâtre, ridée, à l'intérieur se trouve un grain blanchâtre d'une consistance quelque peu cornée. Son odeur est forte et sa saveur âcre brulante [14].</p>
<p style="text-align: center;">Cumin</p>	<p>Le cumin est une petite plante herbacée annuelle prend son origine en Orient, d'une</p>

	<p>hauteur de 30 cm, à feuilles parfumées, finement divisées, ombelles de petites fleurs blanches ou roses [15].</p> <p>Les graines fusiformes représentent la partie consommée comme épice, velu, strié variant du vert au gris-brun, d'une odeur aromatique et un goût épicé et amer [16].</p>
<p style="text-align: center;">Anis vert</p> 	<p>L'anis vert est une plante aromatique herbacée annuelle [17], originaire d'Asie occidentale et du bassin méditerranéen, cultivé actuellement dans la plupart des pays semi-tropicaux et tempérés Chauds [18]. Atteignant 30 à 70 cm de haut, dont on utilise le fruit velu, de 3 à 5 mm de long qui se présente sous forme de diakènes vert grisâtre à stries claires, Il a une saveur légèrement piquante et poivrée et une odeur très aromatique [19].</p>
<p style="text-align: center;">Fenouil</p> 	<p>Le fenouil est une plante annuelle, vivace, originaire du bassin méditerranéen et du sud de l'Europe. Il atteint une hauteur de 0,6 à 1,5 m. Les feuilles sont molles et plumeuses. Les fleurs sont minuscules, jaunes, réunies en ombelles. La tige est dressée, pleine de moelle, très ramifiée [11]. Les semences de fenouil d'une forme elliptique allongés et sont marqués à l'extérieur de nervure longitudinales, leur couleur est jaune-verdâtre, d'une saveur chaude, odeur aromatique agréable [19].</p>
<p style="text-align: center;">Cannelle</p> 	<p>La cannelle est la plus ancienne des épices connues, originaire du de Birmanie. Elle est issue du cannelier, arbre de 10 à 15 m à l'état sauvage [20]. L'écorce intérieure du cannelier se présente sous la forme de petits tubes. Leur parfum est plus fort, plus piquant, moins sucré [19].</p>

I.2. Les composés phénoliques

- **Définition**

Les polyphénols dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits. Leurs fonctions ne sont pas strictement indispensables à la vie du végétal, cependant ces substances jouent un rôle majeur dans les interactions de la plante avec son environnement, contribuant ainsi à la survie de l'organisme dans son écosystème. Le terme « phénol » englobe approximativement 10000 composés naturels identifiés. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones, auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre ou engagé dans une autre fonction : éther, ester ou hétéroside [3].

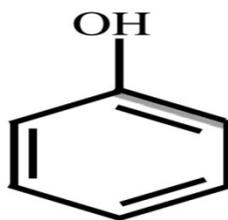


Figure 3 : Structure du noyau phénol.

- **Classification des polyphénols**

La classification des polyphénols est basée essentiellement sur la structure, le nombre de noyaux aromatiques et les éléments structuraux qui lient ces noyaux. On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes.

Les polyphénols sont communément subdivisés en phénols simples, acides phénoliques et coumarines, en naphthoquinones, en stilbénoides (deux cycles en C6 liés par deux atomes de carbone), en flavonoïdes, isoflavonoïdes et anthocyanes, et en formes polymérisées : lignanes, lignines, tanins condensés. Ces squelettes carbonés de base sont issus du métabolisme secondaire des plantes [3].

- **Propriétés thérapeutiques**

Les polyphénols prennent une importance croissante, notamment grâce à leurs effets bénéfiques sur la santé. Ils semblent jouer un rôle important à la fois dans la protection contre

le cancer et les maladies cardio-vasculaires. L'action protectrice contre le cancer s'expliquerait par un mécanisme assez semblable à celui des prébiotiques par leur capacité à sélectionner un type particulier de microbiote, en particulier pour les cancers du système digestif (estomac, côlon, etc.) [21].

I.2.1. Les flavonoïdes

Le terme flavonoïde représente une très large gamme de composés naturels appartenant à la famille des polyphénols. Ces diverses substances se rencontrent à la fois sous forme libre (aglycone) ou sous forme de glycosides. On les trouve, d'une manière générale, dans toutes les plantes vasculaires où ils peuvent être localisés dans divers organes : racines, tiges, bois, feuilles, fleurs et fruits. Ils jouent un rôle important dans la protection des plantes et se trouvent également dans plusieurs plantes médicinales. Des remèdes à base de plantes renfermant ces composés sont utilisés en médecine traditionnelle à travers le monde entier [22].

- **Structure des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des composés possédant un squelette de base à quinze atomes de carbone, constitués de deux noyaux aromatiques et d'un hétérocycle central de type pyrane, formant une structure C6-C3-C6.

Ils diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, et la nature de C [22].

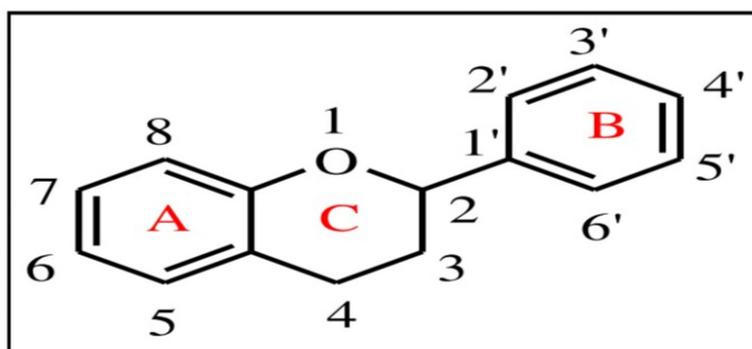


Figure 4 : Structure de base des flavonoïdes.

- **Classification des flavonoïdes**

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols, les flavan-3-ols, les isoflavones, les flavanones et les anthocyanidines. La structure de base de ces différents flavonoïdes peut subir de nombreuses substitutions, les groupements hydroxyles étant généralement en positions 4, 5 et 7. Ces substances existent généralement sous forme de glycosides [23].

- **Propriétés thérapeutiques**

Les flavonoïdes sont naturellement présents dans les fruits et légumes couramment consommés dans l'alimentation humaine. On retrouve aussi ces composés bioactifs dans de nombreuses boissons : vin rouge, bière, lait de soja, thé et chocolat noir. Les données à l'heure actuelle suggèrent des effets bénéfiques des flavonoïdes sur les maladies cardiovasculaires et le cancer [23].

- **Caractéristique des flavonoïdes**

Les flavonoïdes sont des pigments responsables de la coloration des fleurs et des fruits. Ils couvrent une large gamme de couleurs allant du rouge à l'ultraviolet en passant par le jaune. Leur couleur dépend de leur structure mais aussi de l'acidité du milieu (pH) [3].

I.2.2. Pouvoir antioxydant

Le monde des sciences biologiques et médicales, est envahi par un nouveau concept, celui des antioxydants.

Les antioxydants peuvent être définis comme toute substance qui, présente à faible concentration par rapport au substrat oxydable, est capable de ralentir ou d'inhiber l'oxydation de ce substrat. Cette définition fonctionnelle s'applique à un grand nombre de substances, comprenant des enzymes aux propriétés catalytiques spécifiques, mais aussi de petites molécules hydro- ou liposolubles. Cette grande variété physico-chimique autorise la présence d'antioxydants dans tous les compartiments de l'organisme, qu'ils soient intracellulaires, membranaires ou extracellulaires [24].

- **Stress oxydant**

L'organisme doit confronter et contrôler la présence des antioxydants et des pro-oxydants continuellement, ces derniers sont utiles pour l'organisme à dose raisonnable. Le stress

oxydant est le terme se rapportant au déséquilibre entre la génération des oxydants et l'activité des défenses anti-oxydantes, qui pourrait mener aux dommages oxydants. C'est une situation où la cellule ne contrôle plus la présence excessive des espèces radicalaire toxiques [25].

- **Radicaux libres**

Les radicaux libres sont des espèces chimiques, atomes ou molécules, possédant un ou plusieurs électrons non appariés (électron célibataire). La tendance des électrons non appariés à interagir avec les autres molécules ou atomes voisins, pour former des liaisons covalentes, procure aux radicaux libres une très grande instabilité [25].

- **Classification des antioxydants**

- ✓ **Antioxydants synthétiques**

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité.

Le PG (Gallate de Propyle.) et le BHA (Butyl Hydroxy Anisole) sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés [26].

- ✓ **Antioxydants naturels**

Les antioxydants naturels apportés par l'alimentation comprennent, généralement, de l'ascorbate, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs. Les effets bénéfiques sur la santé des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydantes présentes par un grand nombre de composés phytochimiques [27].

Les plantes les plus étudiées et utilisées dans ce domaine sont les épices et les herbes aromatiques. La plupart des espèces qui ont une forte activité antioxydante appartiennent à la famille des lamiacées. Mise à part les composés cités précédemment, les huiles essentielles sont douées également d'un pouvoir antioxydant [28].

- ✓ **Méthodes d'évaluation des propriétés antioxydantes par le Piégeage du radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl (DPPH•)**

Le composé chimique (DPPH) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure activité antioxydant des composés phénoliques. La réduction du radical DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrophotométrie UV visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 515nm provoquée par la présence des extraits phénoliques.

Ce test permet alors d'obtenir des informations sur le pouvoir antioxydant direct de différentes substances phénoliques des extraits [29].

I.3. Extraction solide-liquide

L'extraction solide-liquide est l'opération fondamentale qui a pour but d'extraire, de séparer, de dissoudre soit par immersion soit par percolation d'un liquide, un ou plusieurs composants (liquide ou solide) mélangés à un solide. C'est une opération de transfert ou d'échange de matière entre une phase solide, qui contient la matière à extraire et une phase liquide, le solvant d'extraction. L'infusion est une méthode parmi les méthodes d'extraction solide-liquide [30].

I.3.1.Extraction par infusion

❖ Définition

L'infusion est une méthode d'extraction des principes actifs et/ou des arômes d'un végétal par dissolution dans un liquide (eau) initialement bouillant que l'on laisse refroidir. Elle convient pour l'extraction de parties délicates ou finement hachées des plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinales. Le terme désigne aussi les boissons préparées par cette méthode, comme les tisanes [31].

❖ Principe

Le principe de cette méthode consiste à verser de l'eau chaude sur les plantes sèches et on laisse infuser le temps nécessaire. Le temps d'infusion est variable suivant la nature de la plante (de quelques minutes à 1heure) [31].

❖ Applications

Ce procédé s'applique aux feuilles, aux fleurs, aux fruits tendres et aux parties aériennes ainsi qu'à certaines parties corticales et aux racines fragmentées. Attention cependant à ne pas prolonger le temps d'infusion, la tisane devenant astringente car trop chargée en tannins. La solution alors obtenue s'appelle infusion ou infusé [31].

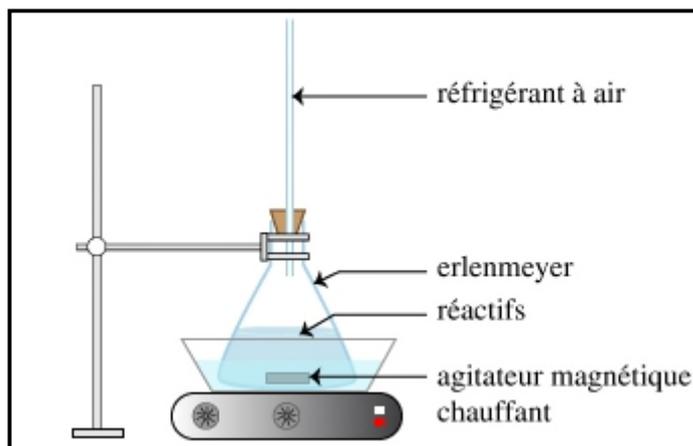


Figure 5 : Schéma de principe de l'extraction par infusion.

I.4. Méthodes d'analyses

La détection d'une espèce chimique ou biochimique ainsi que l'évaluation de sa quantité ou de sa concentration peuvent être faites soit à l'aide d'instruments d'analyses tels que les chromatographes ou les divers spectromètres.

I.4.1. Spectrométrie UV-visible

❖ Définition

La spectrophotométrie UV-visible est une technique analytique fondée sur l'étude du changement de l'intensité de la lumière traversant une solution colorée, dans un domaine d'application comprise entre 200 et 800 nm, en effet pour pouvoir déterminer les concentrations des substances absorbantes [30].



Figure 6 : Appareil UV-visible.

❖ Principe de la spectrophotométrie UV-visible :

Le spectrophotomètre est un appareil permettant de mesurer l'absorbance d'une solution, pour différentes longueurs d'ondes. Pour cela, il fait passer un rayon d'une longueur d'onde choisie à travers une cuve contenant la solution à étudier. Les molécules de la solution absorbent plus ou moins le rayon lumineux, on définit alors l'absorbance pour cette longueur d'onde [31].

❖ Applications de la méthode de spectrophotométrie UV-visible

La spectrophotométrie UV-visible est une méthode facile à mettre en œuvre. Elle est utilisée aussi bien pour l'analyse qualitative que quantitative.

• Analyse qualitative (identification des substances)

La méthode détecte les groupements fonctionnels chromophores mais ne permet pas l'identification certaine des molécules. Elle doit toujours être complétée par d'autres méthodes spectrales (IR, RMN, spectrométrie de masse) ou chimiques.

• Analyse quantitative

Les mesures en UV/Visible reposent sur la loi de Beer et Lambert qui relie dans certaines conditions, l'absorption de la lumière à la concentration d'un composé en solution.

La loi de Beer- Lambert est une loi additive qui s'applique aux différentes molécules présentes en solution ou pour une même molécule aux différentes formes qu'elle peut prendre, Elle sert à établir une relation entre l'absorbance, l'épaisseur de l'échantillon et la concentration des espèces absorbantes [30].

Cette relation s'écrit :

$$A_{\lambda} = -\log (I/I_0) = \epsilon_{\lambda} \cdot l \cdot C \dots \dots \dots (1)$$

Avec:

A_{λ} : absorbance à une longueur d'onde λ en unité arbitraire.

ϵ_{λ} : Coefficient d'extinction molaire ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$).

C : Concentration (mol/L)

l : Epaisseur de la cuve (cm).

I_0 : Intensité de l'énergie d'irradiation arrivant sur l'échantillon (Lumière incidente)

I : Intensité de la radiation qui a traversé l'échantillon (Lumière transmise).

❖ Appareillage

Un spectrophotomètre UV-Visible est constitué schématiquement :

- d'une source lumineuse.
- d'une cellule de mesure.
- d'un sélecteur de longueur d'onde ou monochromateur.
- d'un système de mesure de l'intensité lumineuse ou détecteur.
- d'un dispositif d'affichage et de traitement du signal [4].

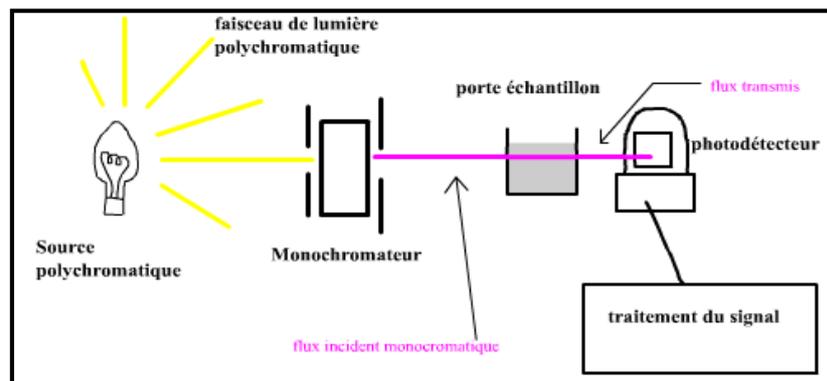


Figure 7 : Les différents composants du spectromètre UV-visible.

I.4.2. Spectrophotométrie d'émission par plasma (ICP)

❖ Définition

L'ICP est une technique d'analyse multi-élémentaire à fort potentiel. Elle offre des possibilités très intéressantes, avec peu d'interférences, la détermination simultanée de nombreux éléments sur les appareillages multicanaux, une grande stabilité, une bonne reproductibilité, et une très faible bruit de fond. Cette technologie a démontré son excellence pour l'analyse des métaux dans des échantillons aussi divers (l'eau, les végétaux, les métaux, les roches...) [32].

❖ Principe de l'ICP

Dans une première étape, l'échantillon est minéralisé à chaud avec de l'acide chlorhydrique et de l'acide nitrique. L'échantillon est filtré et le dosage est ensuite effectué avec un spectromètre à émission au plasma induit par radiofréquence, ou ICP. Le plasma est produit par un phénomène d'induction dans une torche localisée à l'intérieur d'une bobine. Il est amorcé grâce à une décharge électrique qui produit des électrons libres et des ions d'argon.

Ces espèces sont soumises au champ magnétique créé dans la bobine d'induction. Les électrons sont accélérés dans le champ magnétique et produisent un courant induit. Avec les ions, ils produisent des collisions qui créent et entretiennent le plasma, et qui produisent aussi l'atomisation, l'excitation et l'ionisation.

L'échantillon est entraîné dans ce plasma. Les métaux sont atomisés à des températures pouvant atteindre 10000 K et émettent de l'énergie lumineuse à des longueurs d'onde qui leur sont spécifiques. La lumière émise est séparée par un réseau dispersif et son intensité est mesurée à l'aide d'un détecteur solide à canaux multiples [33].

❖ Composition d'un spectromètre ICP [34].

Un spectromètre ICP peut être divisé en quatre parties :

- ✓ le système d'introduction de l'échantillon.
- ✓ le système d'atomisation et d'excitation.
- ✓ le système optique.
- ✓ le système de détection.

L'ensemble de la composition d'un spectromètre ICP est visible sur la figure 8.

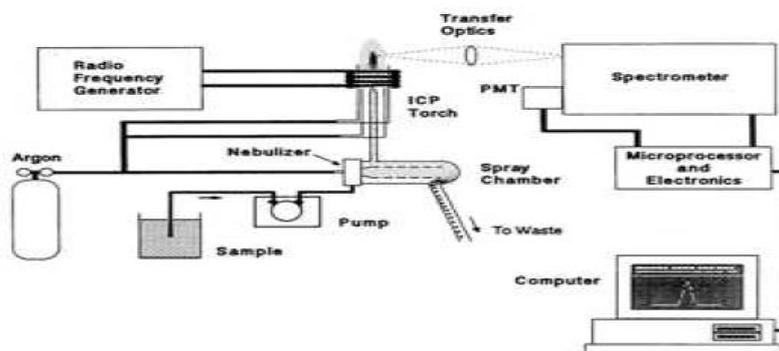


Figure 8 : Schéma de l'appareillage d'un spectromètre ICP.

❖ Avantages de l'ICP

La méthode ICP permet :

- Une analyse rapide et éventuellement simultanée permettant avec un seul instrument de réaliser plusieurs milliers de déterminations élémentaires par jour.
- Très grande sensibilité. Pour la majorité des métaux, les limites de détection sont inférieures à 10 µg/L.
- Absence quasi totale de l'influence de la liaison chimique.
- Relative facilité d'utilisation et d'étalonnage [35].

❖ **Domaine d'application**

La spectrométrie d'émission par ICP est une technique qui s'est progressivement implantée et imposée dans les différents laboratoires d'analyse de contrôle industriel ou de recherche.

A l'heure actuelle, la méthode ICP analyse des échantillons aussi divers que l'eau, l'huile, le sang, les sols, les métaux, les ciments, les roches, les minerais, les céramiques, les engrais, les aliments, les végétaux, les poussières, [35].

I.5. Plans d'expériences

• **Introduction**

En s'inspirant de la norme ISO3534-3, un PE (Plan d'expériences) peut être défini comme une organisation raisonnée d'essais. Une difficulté importante de la méthodologie réside alors dans la manière de choisir les points d'études de façon optimale [36].

Dans l'industrie, la connaissance de la méthode des PE apparaît aujourd'hui comme un préalable d'une part à l'amélioration de la qualité des produits et des procédés, et d'autre part à la réduction des temps de développement [37].

La méthode des plans d'expériences permet en effet d'obtenir un maximum d'information à un coût minimale, En résumé les avantages les plus reconnus sont [38] :

- ❖ Diminution du nombre des essais ;
- ❖ Nombre élevé de facteurs étudiés ;
- ❖ Détection des interactions entre facteurs ;
- ❖ Meilleure précision sur les résultats ;
- ❖ Modélisation ;
- ❖ Optimisation.

• **Terminologie**

Dans la science des plans d'expériences, plusieurs termes sont utilisés, dont nous essayerons de préciser la signification et donner la définition.

➤ **Facteur**

Les variables que l'on désire étudier sont appelées facteurs. En général un facteur varie entre deux bornes : la borne inférieure et la borne supérieure. Dans le langage des plans, on dit que le facteur varie entre le niveau bas (borne inférieure que l'on note plus souvent par -1) et le niveau haut (borne supérieure que l'on note le plus souvent par +1). L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de

variation (Figure 9). Un facteur peut prendre plusieurs niveaux à l'intérieur de son domaine de variation [39].

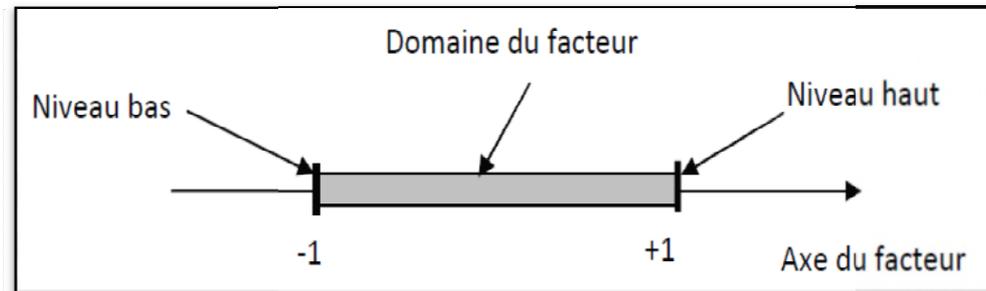


Figure 9 : Domaine de variation du facteur [34].

➤ **Effet d'un facteur**

L'effet d'un facteur A sur la réponse Y s'obtient en comparant les valeurs prises par Y quand le facteur A passe du niveau -1 au niveau +1. Soient y_1 et y_2 ces valeurs [40].

➤ **La réponse**

Les grandeurs qui intéressent l'expérimentateur et qui sont mesurées à chaque expériences sont appelées réponses. Le choix de la réponse ne relève pas de la théorie des plans d'expériences. Ce n'est qu'après une analyse minutieuse des phénomènes, des enjeux, des objectifs et des contraintes de l'étude que l'on peut définir la ou les bonnes réponses [39].

• **Notion de surface de réponse**

Les niveaux x_i représentent les coordonnées d'un point expérimental et y est la valeur de la réponse en ce point. On définit un axe orthogonal à l'espace expérimental et on l'attribue à la réponse. La représentation géométrique du plan d'expériences et de la réponse nécessite un espace ayant une dimension de plus que l'espace expérimental. Un plan à deux facteurs utilise un espace à trois dimensions pour être représenté : une dimension pour la réponse, deux dimensions pour les facteurs [41].

A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la surface de réponse (**Figure 10**).

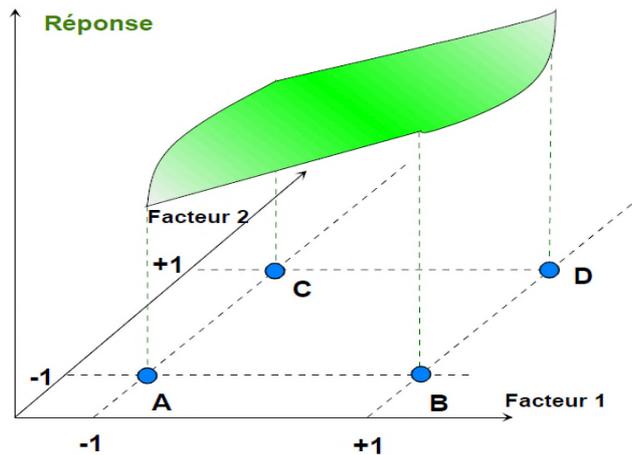


Figure 10 : Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse [39].

- **Formules de codage**

Pour établir un modèle exprimant la réponse en fonction des paramètres opératoires, il est nécessaire de faire la transformation de ces derniers en variables codées ou variables centrées réduites. La formule permettant le passage des variables réelles aux variables codées est :

$$X_j = \frac{Z_j - Z_j^0}{\Delta Z_j}, \quad (j=1, 2, \dots, k) \dots (2)$$

$$Z_j^0 = \frac{Z_{j\max} + Z_{j\min}}{2} \dots (3)$$

$$\Delta Z_j = \frac{Z_{j\max} - Z_{j\min}}{2} \dots (4)$$

Avec :

X_1, X_2, \dots, X_k : Variables centrées réduites ou variables codées ;

Z_1, Z_2, \dots, Z_k : Facteurs contrôlables (variables réelles) ;

$Z_1^0, Z_2^0, \dots, Z_k^0$: Variables réelles correspondantes au centre du plan ou parfois niveau fondamental ;

ΔZ_j : Unité ou intervalle de variation suivant l'axe des Z_j ;

Z_{\min} : Valeur minimale de la variable réelle ;

Z_{\max} : Valeur maximale de la variable réelle ;

K : le nombre de facteurs indépendants [40].

- **Classification des plans d'expériences**

La technique des plans d'expériences va permettre de répondre à nos exigences. En effet, son principe consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs à chaque essai.

Il existe actuellement un nombre important de plans différents. Chacun, par ses propriétés, permet de résoudre certains problèmes particuliers. On peut cependant diviser les plans d'expériences en deux grandes catégories :

- ❖ Les plans pour étudier (estimer et comparer) les effets des paramètres ;
- ❖ Les plans pour régler les paramètres afin d'atteindre un optimum.

Nous nous concentrerons ici à présenter les plans d'expériences factoriels qui sont les plus simples et les plus utilisés [42].

- ✓ **Plans factoriels complets à deux niveaux 2^k**

Les plans factoriels à 2 niveaux sont les plus simples et plus rapides à mettre en œuvre, ils permettent de bien comprendre le principe de la méthode, et ont de nombreuses applications. Le nombre d'expériences à réaliser se calcule par :

Le nombre d'expériences = 2^k . où k est le nombre de facteurs étudiés.

Ces plans sont basés sur le principe que dans bien des cas, on admet que la réponse est linéaire quand un facteur passe d'un niveau minimal à un niveau maximal. Il suffit alors d'étudier seulement ce qui se passe aux bords du domaine de variation du facteur [43].

L'équation de régression du plan factoriel complet à deux niveaux s'écrit :

Exemple Pour trois facteurs :

$$Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{123}X_{123} \dots (5)$$

- **Calcul des coefficients du modèle**

Le plan d'expériences peut se retranscrire sous la forme

$$Y = X B + E \dots (6)$$

Avec :

Y : le vecteur des résultats d'essais ;

X : la matrice du modèle ;

B : le vecteur des estimations des coefficients ;

E : la matrice d'erreur.

La matrice \mathbf{X} n'étant pas souvent une matrice carrée, nous avons recouru pour résoudre ce problème à l'écriture matricielle de la méthode des moindres carrés, dont l'équation est [44] :

$$\mathbf{B} = (\mathbf{X}^t \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^t \mathbf{Y} \dots (7)$$

➤ **Analyse statistique**

• **Vérification de la signification des coefficients**

La signification des coefficients est étudiée par le test de student [45].

Les valeurs des t_j sont calculées par l'expression suivante :

$$t_j = \frac{|b_j|}{S_{b_j}} \dots (8)$$

t_j : suit une loi de Student ;

b_j : le $j^{\text{ème}}$ coefficient de l'équation de régression ;

S_{b_j} : La variance des coefficients du modèle elle est définie par

$$S_{b_j} = \frac{S_{\text{rep}}}{\sqrt{N}} \dots (9)$$

Avec :

N : le nombre d'essais.

La variance des mesures (ou de reproductibilité) est estimée par celle calculée au centre du domaine expérimental :

$$S_{\text{rep}}^2 = \frac{\sum_{i=1}^{N_0} (y_i - \bar{y}_0)^2}{N_0 - 1} \dots (10)$$

y_i et N_0 représentent respectivement la réponse et le nombre de points au centre du domaine.

\bar{y}_0 La moyenne sur les mesures au centre.

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum_{i=1}^{n_0} y_i}{N_0} \dots (11)$$

Si la valeur t_j est supérieure à la valeur t_α lue sur la table de student correspondant au risque $\alpha=5\%$ pour un nombre de degré de liberté $f = N_0 - 1$ alors le coefficient b_j est significativement différent de zéro. Les coefficients non significatifs sont exclus de l'équation du modèle [45].

- **Test de validation du modèle**

Avant d'accepter le modèle postulé, il est impératif de vérifier que ce dernier décrit correctement les variations de la réponse en fonction des facteurs et cela en effectuant les tests suivants [43] :

- ❖ **Recherche de biais**

Le test de Fisher consiste à comparer la variance résiduelle S_{res}^2 à la variance expérimentale estimée par la variance de reproductibilité S_{rep}^2 .

$$F1 = \frac{S_{res}^2}{S_{rep}^2} < F(0.95, N-1, N_0-1) \dots (12)$$

Avec :

$$S_{res}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y})^2}{N-p} \dots (13)$$

Avec

P : Le nombre de coefficients significatifs.

\hat{y} : est la moyenne des repenses prédites.

Pour vérifier si la différence est significative, il faut d'abord lire dans la table de Fisher la valeur $F_\alpha(f_1, f_2)$ cela signifie que la différence entre les deux variances est petite c'est à dire le modèle est sans biais.

- **Test de signification globale de la régression**

On teste la signification de la régression en comparant cette fois-ci la variance due à la régression à la variance résiduelle [43].

$$F2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2 / 1}{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / (N-1)} = S_{reg}^2 / S_{res}^2 \dots (14)$$

Avec \bar{y} la moyenne des rendements de cémentation des essais qui est donnée par :

$$\bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N} \dots (15)$$

Si F est supérieur à celle tabulée du test de Fisher $F(f_1, f_2)$ pour le niveau de signification α de 0,05 et le nombre de degré de liberté $f_1 = 1$ et $f_2 = N-1$, dans ce cas, les variables retenues pour la modélisation ont, dans leur ensemble un effet significatif sur y et l'équation est adéquate [43].

❖ Coefficient de détermination

Le coefficient de détermination appelé aussi coefficient de régression R^2 est défini par :

$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} = S_{reg}^2 / S_{res}^2 \dots (16)$$

Plus le coefficient de détermination est proche de 1, plus le modèle est meilleur.

Lorsque l'échantillon est d'étendue assez faible, il est nécessaire d'apporter une correction pour l'erreur. L'estimation de la force de la liaison par le coefficient de corrélation multiple est d'autant plus exagérée que le nombre de degré de liberté de l'échantillon $f=N-1$ est plus petit. La formule de correction est la suivante [43]:

$$R_{Corr}^2 = R^2 - (1 - R^2) \frac{1}{N-1} \dots (17)$$

❖ Analyse des résidus

Un résidu est la différence entre la réponse mesurée et la réponse calculée. L'analyse des résidus consiste à porter ces derniers en fonction des réponses prédites ou en fonction d'autres grandeurs. On peut ainsi détecter s'il existe une relation entre les résidus et la grandeur portée en abscisse. On doit arriver à des diagrammes ne laissant apparaître aucune relation ou tendance entre les grandeurs étudiées [44].

✓ Plans composites centrés

Le plan composite se prête bien au déroulement séquentiel d'une étude, la première séquence étant la réalisation d'un plan factoriel 2^K . Si la validité du modèle du 1^{er} ordre n'est pas retenue, c'est-à-dire, la réponse mesurée statistiquement est différente de celle calculée au même point et s'il semble que le centre de l'expérience soit proche de l'optimum, on ajoutera d'autres essais pour établir un modèle du 2^{eme} ordre. Les nouvelles combinaisons des traitements sont représentées par les points d'expériences à une distance α du centre du domaine expérimental et appartiennent aux axes du plan factoriel, dits points en étoiles et par n_0 répétitions au centre du domaine conduisant à n essais égale à la somme [38] :

- des essais du plan factoriel (ou fractionnaire), notés n_f ;
- des essais du plan en étoile, notés n_α ;
- des essais au centre, notés n_0 .

Le modèle mathématique postulé utilisé avec les plans composites est un modèle de second degré avec interactions. On ne conserve, en générale, que les interactions d'ordre deux [45].

Exemple Pour trois facteurs l'équation du modèle s'écrit :

$$Y=b_0+b_1x_1+b_2x_2+b_3x_3+b_{12}x_1x_2+b_{13}x_1x_3+b_{23}x_2x_3+b_{22}x_2^2+b_{33}x_3^2 \dots (18)$$

Chapitre II

Matériels et méthodes

CHAPITRE II

Matériels et méthodes

II.1. Appareillages et logiciels utilisés.

II.1.1. Appareillages :

- Un spectrophotomètre «EVOLUTION 220, Thermo SCIENTIFIC», couplé avec un micro-ordinateur, pour le tracé des différents spectres d'absorption UV en utilisant des cuves en quartz de trajet optique de 1cm.
- Les mesures du pH sont effectuées à l'aide d'un pH-mètre de type (HANNA).
- Les pesés sont effectuées à l'aide d'une balance électronique (OHAUS).de précision de 0.0001 g.
- Un Thermomètre pour la mesure de la température de l'eau.
- Pour le prélèvement des volumes, une micropipette « TRANCFERPETTE BRAND » est utilisée, ayant un domaine de 100 à 1000 µl.
- Une plaque chauffante (KIKA, LABORTECHNIK) pour le chauffage de l'eau.
- Les mesures de la conductivité sont effectuées à l'aide d'un Conductimètre (INOLAB).
- Un broyeur (RETSCH. ZM 200) pour le broyage des épices
- Une étuve (MEMMERT) pour le séchage des épices.
- Un distillateur (G.F.L) pour la préparation de l'eau distillée.
- Un purificateur (ARIUM PRO) pour la préparation de l'eau pure.

II.1.2. Logiciels :

Excel 2007 et MATLAB 2014 pour les calculs et le traitement des résultats.

II.2. Matériels et produits chimiques :

II.2.1. Matériels végétaux :

Nous avons utilisé six épices (poivre noir, cumin, coriandre, cannelle, fenouil, et anis vert), commercialisés en Algérie (ville de Bejaia) sous formes de grain dans des sachets portant le nom : TACHFINE.

La classification et la description botanique de ces épices sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Classification des épices sélectionnées.

Epices	Classification
<p data-bbox="416 360 549 389">Anis vert</p> 	<p data-bbox="807 360 1011 389">Règne : plantae</p> <p data-bbox="807 416 1142 445">Division : Magnoliophyta</p> <p data-bbox="807 472 1114 501">Classe : Magnoliopsida</p> <p data-bbox="807 528 1027 557">Ordre : Apiales</p> <p data-bbox="807 584 1046 613">Famille: Apiaceae</p> <p data-bbox="807 640 1059 669">Genre : <i>Pimpinella</i></p> <p data-bbox="807 696 1257 725">Espèce: <i>Pimpinellaanisum L. [47]</i>.</p>
<p data-bbox="421 748 544 777">Cannelle</p> 	<p data-bbox="807 748 1011 777">Règne : plantae</p> <p data-bbox="807 804 1136 833">Division :Magnoliophyta</p> <p data-bbox="807 860 1114 889">Classe : Magnoliopsida</p> <p data-bbox="807 916 1075 945">Ordre : Magnoliales</p> <p data-bbox="807 972 1050 1001">Famille:Lauraceae</p> <p data-bbox="807 1028 1091 1057">Genre : <i>Cinnamomum</i></p> <p data-bbox="807 1084 1251 1113">Espèce:<i>Cinnamomumcassia. [48]</i>.</p>
<p data-bbox="411 1144 555 1173">Coriandre</p> 	<p data-bbox="807 1144 1011 1173">Règne : plantae</p> <p data-bbox="807 1200 1136 1229">Division :Magnoliophyta</p> <p data-bbox="807 1256 1107 1285">Classe :Magnoliopsida</p> <p data-bbox="807 1312 1008 1341">Ordre :Apiales</p> <p data-bbox="807 1368 1046 1397">Famille: Apiaceae</p> <p data-bbox="807 1424 1085 1453">Genre : <i>CoriandrumL</i></p> <p data-bbox="807 1480 1267 1509">Espèce: <i>CoriandrumsativumL [49]</i>.</p>
<p data-bbox="437 1541 533 1570">Cumin</p> 	<p data-bbox="807 1541 1011 1570">Règne : plantae</p> <p data-bbox="807 1597 1246 1626">Embranchement : Spermaphytes</p> <p data-bbox="807 1653 1098 1682">Classe : dicotylédones</p> <p data-bbox="807 1709 1018 1738">Ordre : Apiales</p> <p data-bbox="807 1765 1040 1794">Famille:Apiaceae</p> <p data-bbox="807 1821 1034 1850">Genre: <i>Cuminum</i></p> <p data-bbox="807 1877 1257 1906">Espèce :<i>Cuminumcuminum L [50]</i>.</p>

<p style="text-align: center;">poivre noir</p> 	<p>Règne : plantae Classe : Equisetopsida Ordre : Piperales Famille: Piperaceae Genre : <i>Piper</i> Espèce: <i>Piper nigrum</i> [51].</p>
<p style="text-align: center;">Fenouil</p> 	<p>Règne : plantae Classe : dicotylédones Ordre : Apiales Famille: Apiaceae Genre : <i>Foeniculum</i> Espèce: <i>Foeniculumvulgare</i> [52].</p>

II.2.2. Matériels Utilisés :

- Des boites à pétri.
- Spatule.
- Fioles de 25ml, 50ml, 100ml et 250ml.
- Pipette.
- Becher 25ml, 50ml.
- Papier aluminium.
- PARAFILM.
- Papier absorbant.
- Papier filtre Waterman n°1
- Pissette.
- Entonnoir.

II.2.3. Produits chimiques :

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences sont rassemblé dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Les réactifs utilisés lors des expériences.

Réactifs	Masse molaire (g/mole)	Pureté (%)	Formule chimique
Trichlorure d'aluminium hexa hydraté.	241,33	100	AlCl ₃ , 6H ₂ O
Carbonate de sodium.	105,99	99,8	Na ₂ CO ₃
Réactif de Folin –Ciocalteu.	/	/	/
Méthanol.	32,04	99	CH ₄ O
Acide gallique.	118,14	/	C ₇ H ₆ O ₅ , H ₂ O
Quercétine.	302,24	95	C ₁₅ H ₁₀ O ₇

II.3. Prétraitements du matériel végétal

II.3.1. Séchage

Afin de se débarrasser de l'humidité, Les échantillons de matière végétale sont mis dans une étuve à 50°C. Une pesée de l'échantillon (épices) a été effectuée plusieurs fois Jusqu'à obtenir une masse constante. La température de 50°C permet de préserver de la dégradation des substances thermolabiles telles que les polyphénols et les vitamines.

II.3.2. Broyage

Une fois séchées, Les épices sous forme grains et bâtons subissent un broyage à l'aide d'un broyeur électrique de marque RETSCH, jusqu'à obtention d'une poudre fine et homogène. Cette dernière a été tamisée à l'aide d'un tamiseur, contenant des mailles granulométrie 01µm. Les poudres obtenues sont conservées dans des boîtes à pétri et stockées à l'abri de la lumière dans une étuve pour les protéger contre l'humidité.

II.4. Préparation des solutions

➤ Solution de Folin-Ciocalteu diluée :

Un volume de 1 ml de FC est additionné avec 9 ml d'eau distillé .stocké à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur.

➤ Solution de chlorure d'Aluminium ($\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$) :

On verse dans une fiole de 100 ml une masse de 3.62 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg) de chlorure d'aluminium, sous la hotte on ajoute une quantité de méthanol et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

➤ Solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) :

On verse dans une fiole de 100 ml une masse de 7,5 g (pesée à l'aide d'une balance précise à 1 mg) de carbonate de sodium, on ajoute une quantité d'eau distillé et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge

II.5. Quantification et dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

II.5.1. Dosage des polyphénols totaux :

Les polyphénols présents dans les extraits des épices étudiés, sont quantifiés par spectrophotométrie, basées sur des réactions d'oxydoréduction en utilisant le réactif Folin-Ciocalteu (FC) comme oxydant.

➤ Principe :

L'estimation quantitative des polyphénols, est réalisée à l'aide du réactif Folin-Ciocalteu, mélange d'acide phosphotungstique ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($\text{H}_3\text{PMO}_{12}\text{O}_{40}$), Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des composés phénoliques par ce réactif, qui entraîne la formation d'un nouveau complexe d'oxydes métalliques de tungstène(W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), de couleur bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux [3].

➤ Protocole :

La teneur en polyphénols totaux des extraits d'épices est déterminée par la méthode de **Rossi** [3], La concentration dosée est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de la matière sèche, en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec l'acide gallique [3].

Le blanc est préparé dans les mêmes conditions opératoires, la liqueur est remplacée par l'eau distillée.

Le protocole du dosage est effectué comme suit

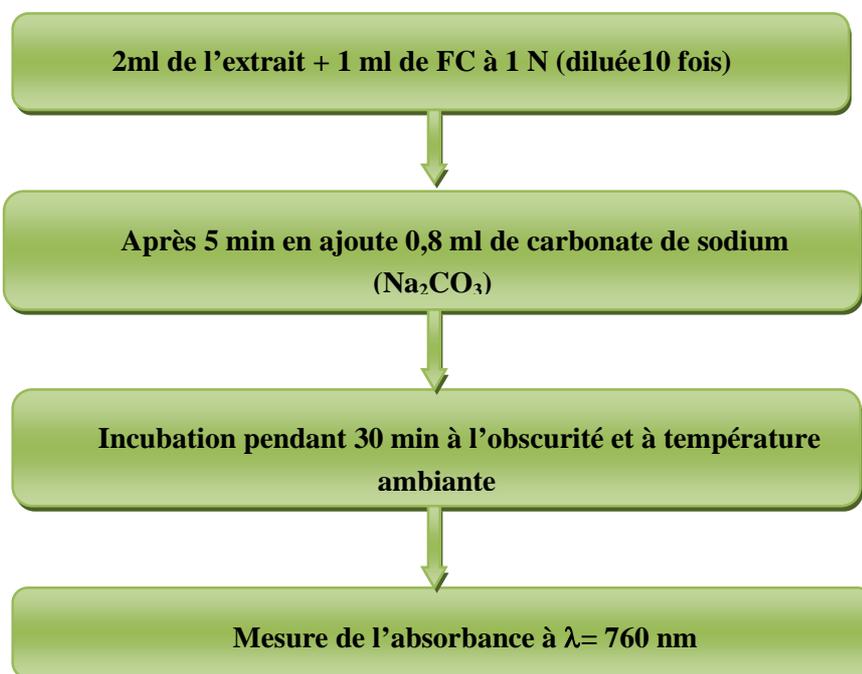


Figure 11 : Etapes de dosage des polyphénols totaux.

➤ **Courbe d'étalonnage de l'acide gallique :**

La courbe d'étalonnage est obtenue dans le but de déterminer l'intervalle de linéarité, et donc de validité de la loi de Beer-Lambert, et ce en traçant la variation de l'absorbance maximale, correspondant à la longueur d'onde 760 nm, en fonction de la concentration du composé considéré.

Elle est réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires, en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

➤ **Préparation de la solution mère d'acide gallique :**

A l'aide d'une balance on pèse 0,02 g de l'acide gallique, versée dans une fiole de 100 ml, on y rajoute une quantité d'eau distillé et on agite jusqu'à sa dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

➤ **Préparation des étalons**

A partir de la solution mère d'acide gallique nous avons préparées des étalons de différentes concentrations dans des fioles 25 ml.

D'après la loi de dilution les volumes de solution mère (V_0) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante :

$$C_0 \times V_0 = C_1 \times V_1 \dots \dots \dots (20)$$

$$0,2 \times V_0 = 25 \times C_1 \dots \dots \dots (21)$$

$$V_0 = (25 \times C_1) / 0,2 \dots \dots \dots (22)$$

Les concentrations et les volumes pour l'établissement de la courbe d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Concentration des étalons de l'acide gallique

C (10^{-2} mg/ml)	0,08	0,1	0,16	0,24	0,32	0,4	0,48	0,5	0,56	0,64	0,72
V (ml)	0,05	0,062	0,1	0,15	0,2	0,25	0,3	0,312	0,35	0,4	0,45

0,88	0,96	1	1,28	1,44	1,76
0,55	0,6	0,625	0,8	0,9	1,1

➤ Dosage des étalons

Nous avons procédé au dosage de ces étalons en suivant le même protocole de dosage des polyphénols totaux. Nous avons établi la courbe d'étalonnage pour le dosage des polyphénols en mesurant les absorbances des différents étalons dosés à la longueur d'onde 760 nm.

➤ Calcul de la teneur en polyphénols

La teneur en polyphénols est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par g de matière Sèche. Elle est calculée d'après l'équation de la droite d'étalonnage de l'acide gallique.

II.5.2. Dosage des flavonoïdes :

➤ Principe :

La détermination de la teneur en flavonoïdes dans l'extrait de chaque épice est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$). La formation d'une liaison covalente entre le trichlorure d'aluminium et les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes produisent un complexe de couleur jaune ayant une absorbance maximale à 430 nm [3].

➤ **Protocole :**

La concentration des flavonoïdes dosés est exprimée en mg équivalent de quercétine /g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine.

Le blanc est préparé dans les mêmes conditions opératoires, la liqueur est remplacée par le méthanol. Le protocole du dosage est effectué comme suit :

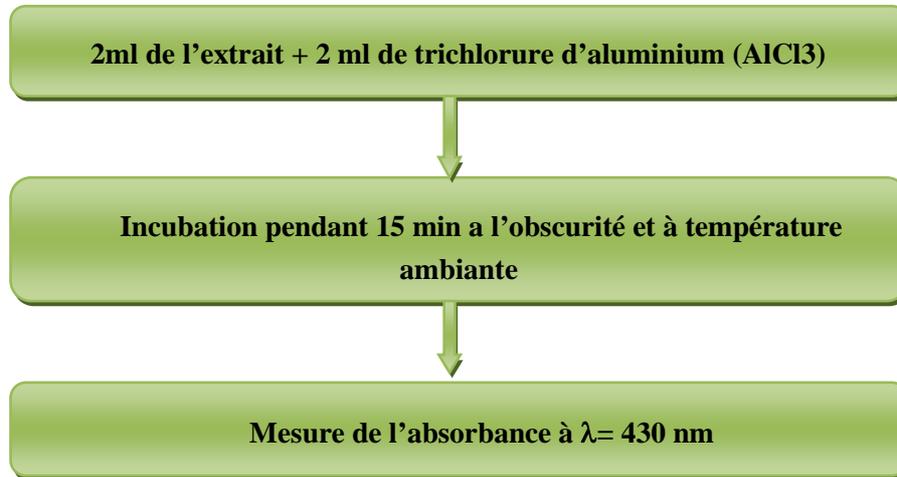


Figure 12 : Etapes du dosage des flavonoïdes totaux [3].

➤ **Courbe d'étalonnage**

Comme pour le dosage des polyphénols, une courbe d'étalonnage est réalisée dans les mêmes conditions opératoires, à la longueur d'onde de 430 nm, en utilisant la quercétine comme contrôle positif à différentes concentrations initiales.

➤ **Préparation de la solution mère de quercétine**

0,0125 g de la quercétine est introduit dans une fiole de 100 ml, sous la hotte, on ajoute du méthanol et on agite jusqu'à dissolution totale, puis on remplit jusqu'au trait de jauge.

➤ **Préparation des étalons**

A partir de la solution mère de la quercétine nous avons préparées des étalons de différentes concentrations dans des fioles 25 ml.

D'après la loi de dilution Les volumes de solution mère (V0) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante :

$$C_0 \times V_0 = C_1 \times V_1 \dots \dots \dots (23)$$

$$47.5 \times V_0 = 25 \times C_1 \dots \dots \dots (24)$$

$$V_0 = (25 \times C_1) / 47.5 \dots \dots \dots (25)$$

Les concentrations et les volumes pour l'établissement de la courbe d'étalonnage sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Concentration des étalons de quercétine.

C (10⁻² mg/ml)	0,112	0,168	0,179	0,224	0,28	0,336	0,392	0,448	0,504	0,56	0,616
V (ml)	0,05	0,075	0,08	0,1	0,125	0,15	0,175	0,2	0,225	0,25	0,275

0,672	0,896	1,792	2,24
0,3	0,4	0,8	1

➤ Dosage des étalons

Nous avons procédé au dosage de ces étalons en suivant le même protocole de dosage des flavonoïdes totaux et nous avons établi la courbe d'étalonnage pour le dosage des flavonoïdes en mesurant les absorbances des différents étalons dosés à la longueur d'onde 430 nm.

➤ Calcul de la teneur en flavonoïdes

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par g de matière Sèche. Elle est calculée d'après l'équation de la droite d'étalonnage de la quercétine.

II.5.3. Evaluation de l'activité antioxydant

➤ Principe

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre, stable ou accepteur d'hydrogène de couleur violet intense [53]. Ce radical perd sa coloration native quand il se lie avec des substances anti oxydantes (AH), qui lui transfèrent des électrons ou des protons. La forme réduite du DPPH confère à la solution une couleur jaune [54].

Le virage vers cette coloration et l'intensité de la décoloration découle, de la nature, de la concentration et de la puissance des principes actifs présents [55].

Le pourcentage d'activité antioxydant (I%=pourcentage d'inhibition du DPPH) est calculé selon la formule suivante :

$$I(\%) = [(Abs\ blanc - Abs\ éch) / Abs\ blanc] \times 100$$

Abs blanc : absorbance du DPPH au temps zéro avant l'addition de l'échantillon.

Abs éch : absorbance de l'échantillon testé après 30 mn d'incubation.

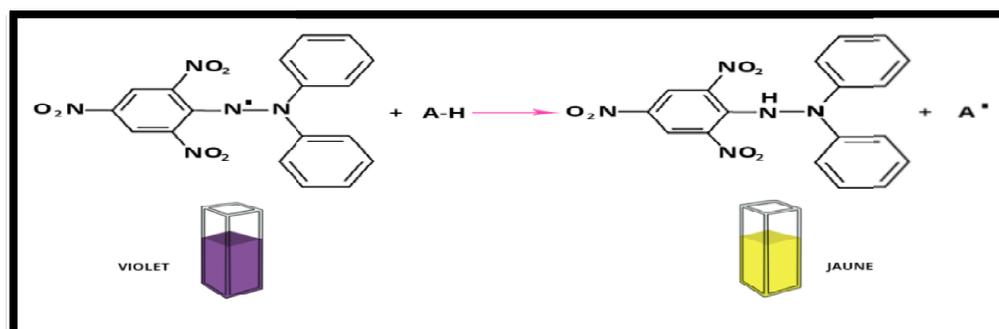


Figure 13 : Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylhydrazyl) [55].

➤ Calcul des IC50

IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50% de radical DPPH. Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes tracés, pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées [56].

➤ Protocole

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1- Diphenyl-2-picrylhydrazyl) selon la méthode décrite par Burits où 50 µl de la solution d'extrait testée à différentes concentrations sont mélangées avec 1.95µl d'une solution méthanoïque de DPPH (0.0028g/100ml). Après une période d'incubation de 30 minutes à la température ambiante, l'absorbance est mesuré à la longueur d'onde de 515 nm [57].

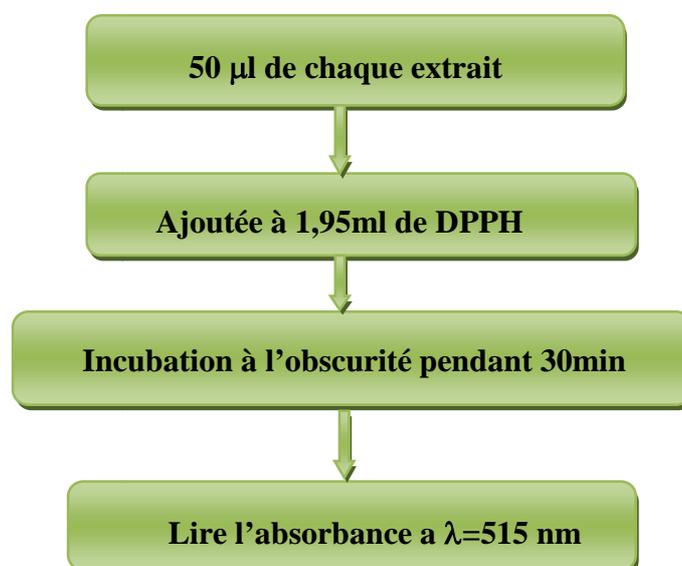


Figure 14 : étapes du test de DPPH. [57].

II.6. Application des plans d'expériences :

Le traitement des résultats est réalisé à l'aide du logiciel MATLAB. Le logiciel nous a permis de traiter un plan d'expérience de type composite centré. Dans ce type de plan trois paramètres peuvent être testés, à savoir, la température de l'infusion, le temps d'infusion et la concentration massique de l'extrait. Chaque paramètre étant borné sur la base de l'étude préliminaire effectuée.

Les valeurs extrêmes des paramètres opératoires (Z1, Z2, Z3) sont résumées dans le tableau 7.

Tableau 7 : Domaine d'étude .

Niveau	Z1=m (mg MS/ml eau)	Z2=T (°C)	Z3=t (min)
$\alpha = -1,68$	4,32	45	1,6
-1	5	55	5
0	6	70	10
1	7	85	15
$\alpha = 1,68$	7,68	95,2	18,4

Dans ce type de plan, 20 manipulations doivent être menées afin de tester les trois paramètres sur l'enrichissement des extraits étudiés par les composés phénoliques. A cet effet une étude a été conduite et nous a permis d'avoir les résultats représentés dans le tableau 8.

Tableau 8. Matrice X correspondant au modèle du 2^{ème} degré (plan composite centré, plan uniforme de précision isovariant par rotation).

N° essai	X1	X2	X3	Z1 (m)	Z2(T)	Z3(t)
1	-	-	-	5	55	5
2	+	-	-	7	55	5
3	-	+	-	5	85	5
4	+	+	-	7	85	5
5	-	-	+	5	55	15
6	+	-	+	7	55	15
7	-	+	+	5	85	15
8	+	+	+	7	85	15
9	0	0	0	6	70	10
10	0	0	0	6	70	10
11	0	0	0	6	70	10
12	0	0	0	6	70	10
13	0	0	0	6	70	10
14	0	0	0	6	70	10
15	-1,68	0	0	4,32	45	10
16	1,68	0	0	4,32	95,2	10
17	0	-1,68	0	6	70	10
18	0	1,68	0	6	70	10
19	0	0	-1,68	6	70	1,6
20	0	0	1,68	6	70	18,4

II.7. Analyse des métaux dans les extraits d'infusion d'épices :

Pour l'analyse de différents métaux dans les épices en va faire passer dans l'ICP toutes les liqueurs des épices déjà préparé.

En a fait l'étude sur six différents épices qui sont : le poivre noir, cumin, cannelle, coriandre, anis vert, et le fenouil.

➤ Préparation de l'extrait

A l'aide d'une balance on pèse 0,6 g de notre épice, et on ajoute 100 ml de l'eau pure chauffée à 85°C, on laisse infusée pendant 15min à l'abri de lumière et à une température ambiante, on filtre l'extrait et on laisse refroidir avant de le passer à l'ICP.

➤ **Métaux analysés**

Les métaux que nous avons analysés dans cette étude sont :

- | | |
|----------------------|-----------------------|
| 1) Le Chrome (Cr) | 7) Le Baryum (Ba) |
| 2) Le Fer (Fe) | 8) Le Manganèse (Mn) |
| 3) Le Magnésium (Mg) | 9) Le Zinc (Zn) |
| 4) Le plomb (Pb) | 10) Le Titan (Ti) |
| 5) Le Nickel (Ni) | 11) L'Indium (In) |
| 6) Arsenic (As) | 12) Le Strontium (Sr) |

Chapitre III

Résultats et discussions

CHAPITRE III

Résultats et discussions

III.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux

III.1.1. Dosage des polyphénols totaux :

Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en g équivalent d'acide gallique par 100 gramme de matière sèche (g EAG/100gMS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique Figure 15.

❖ Courbe d'étalonnage

Tableau 9 : Les absorbances correspondantes aux étalons de l'acide gallique.

C (10 ⁻² mg/ml)	0,08	0,1	0,16	0,24	0,32	0,4	0,48	0,5	0,56	0,64	0,72
A	0,05	0,07	0,12	0,14	0,16	0,24	0,25	0,31	0,30	0,31	0,32

0,88	0,96	1	1,28	1,44	1,76
0,39	0,43	0,49	0,62	0,64	0,80

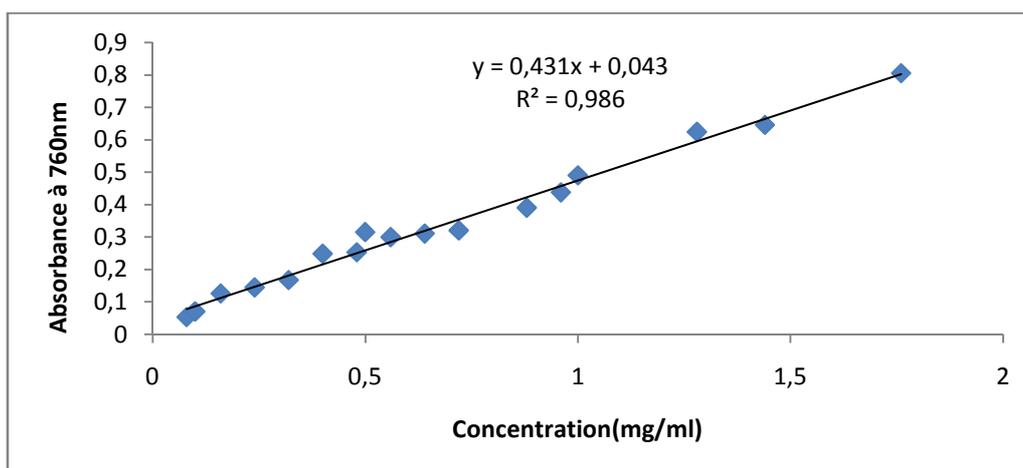


Figure15 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

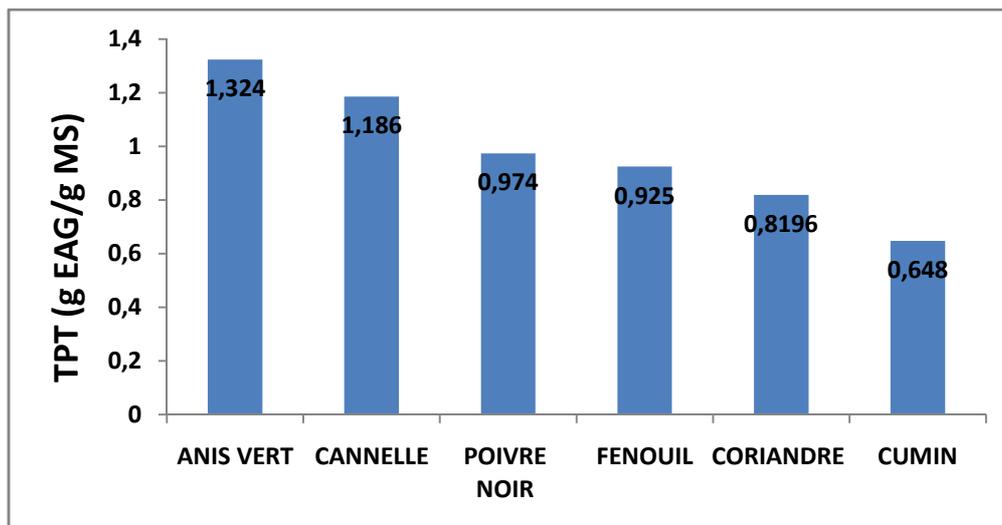


Figure 16: Teneur des polyphénols totaux(g EAG/100 g de matière sèche).

La figure 16 montre que toutes les épices étudiées contiennent des composés phénoliques. La plus grande teneur en polyphénol total est trouvée dans l'extrait de l'anis vert. L'ordre décroissant de la TPT est comme suit : anis vert, cannelle, poivre noir, fenouil, coriandre, cumin avec respectivement les valeurs : 1,324>1,18 >0,97 >0,92 > 0,81>0,64g EAG/100 g MS.

III.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

La détermination de la teneur en flavonoïdes dans les extraits d'infusion des épices étudiées, est effectuée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$).

Les résultats obtenus sont exprimés en g équivalent quercétine par 100 gramme de matière sèche (g EQ/100gMS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la quercétine Figure 18.

❖ Courbe d'étalonnage

Tableau10 : Les absorbances correspondantes aux étalons de la quercétine.

C (10 ⁻² mg /ml)	0,112	0,168	0,179	0,224	0,28	0,336	0,392	0,448	0,504	0,56	0,616
A	0,021	0,064	0,118	0,127	0,104	0,149	0,209	0,201	0,263	0,26	0,246

0,672	0,896	1,792	2,24
0,283	0,669	1,077	1,354

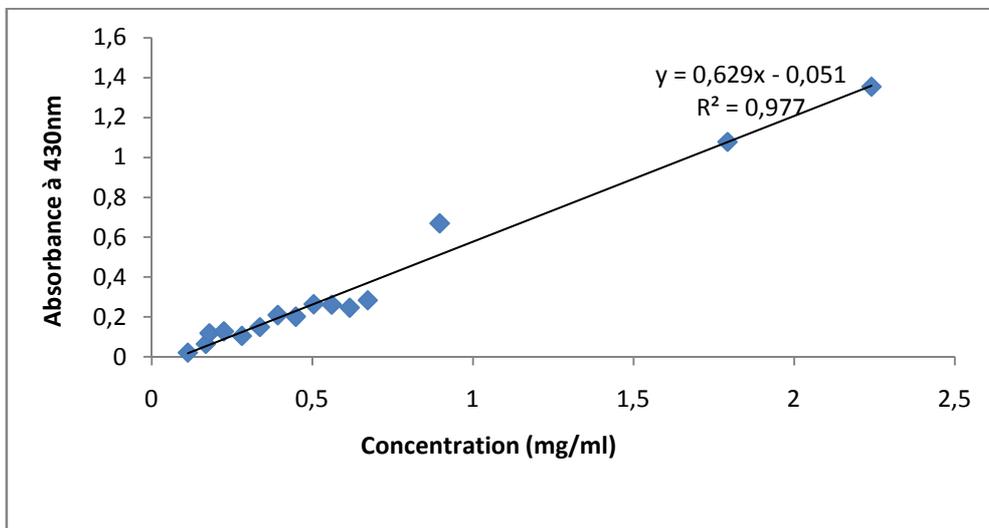


Figure17 : Courbe d'étalonnage de la quercétine.

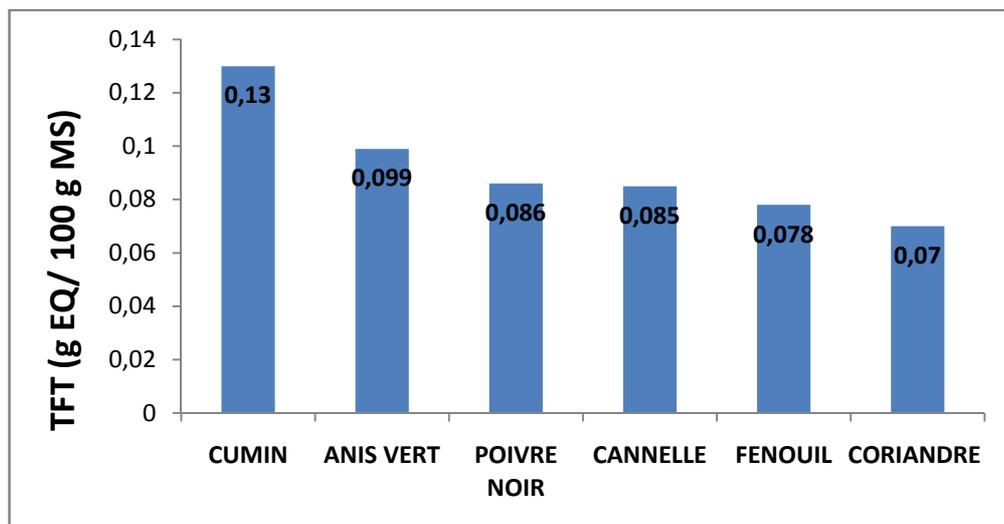


Figure 18 : Teneur en flavonoïdes totaux(g EQ/100 g de matière sèche).

On constate après la figure 18 que tous les épices étudiées contiennent des flavonoïdes avec différentes teneurs. L'épice la plus riche en flavonoïdes est le cumin avec une teneur de 0,13 g EQ/100g MS, suivie de l'anis vert, poivre noir, cannelle, fenouil et coriandre enregistrant respectivement par ordre décroissant les teneurs suivantes 0,099 > 0,086 > 0,085 > 0,078 > 0,07 g EQ/100gMS.

Discussion générale

Plusieurs études ont été effectuées sur la quantification des métabolites secondaires et surtout des polyphénols y compris les flavonoïdes vue l'importance de ces métabolites dans la recherche biomédicale, biochimiques et autres.

On remarque d'après cette étude que la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux varie d'une épice à une autre, pour les polyphénols totaux la teneur la plus élevée est observé dans l'extrait de l'anis vert et la cannelle ; par contre pour les flavonoïdes la teneur la plus élevée est observé dans l'extrait de cumin.

Nos résultats concordent avec certaines études ultérieures, comme l'étude de GHILANI [8], sur la cannelle, le poivre noir et le cumin, dont il a trouvé le même ordre de grandeur des teneurs en polyphénols et flavonoïdes.

Par contre l'étude de BOUKRI [1], a trouvé des teneurs différentes en polyphénols et en flavonoïdes de nos résultats. Cette différence est peut-être due à des facteurs intrinsèques (génétique) et extrinsèques (conditions climatiques, les pratiques culturelles, la maturité à la récolte et les conditions de stockage) des épices étudiées.

Les différences de concentrations constatées dans le dosage des polyphénols totaux peuvent être dues aussi à la faible spécificité du réactif de Folin-Ciocalteu. Le réactif est extrêmement sensible à la réduction de tous les groupes d'hydroxyles non seulement celles des composés phénoliques, mais également de certains sucres et de protéines...etc.

III.1.3. Mesure du pouvoir antioxydant :

- **Pourcentage d'inhibition :**

Après 30 min d'incubation de la solution DPPH-extrait (à différentes concentrations), la coloration violette vire vers une coloration jaune dans les extraits, ce changement de couleur est dû à la réduction de DPPH, ce qui montre que les échantillons ont un effet scavenger de radical DPPH.

La figure 19 montre les résultats de mesure du pourcentage d'inhibition du radical DPPH en fonction de la concentration des composés testés. Ce pourcentage augmente avec l'augmentation de la concentration, et cela pour tous les extraits d'épices analysés.

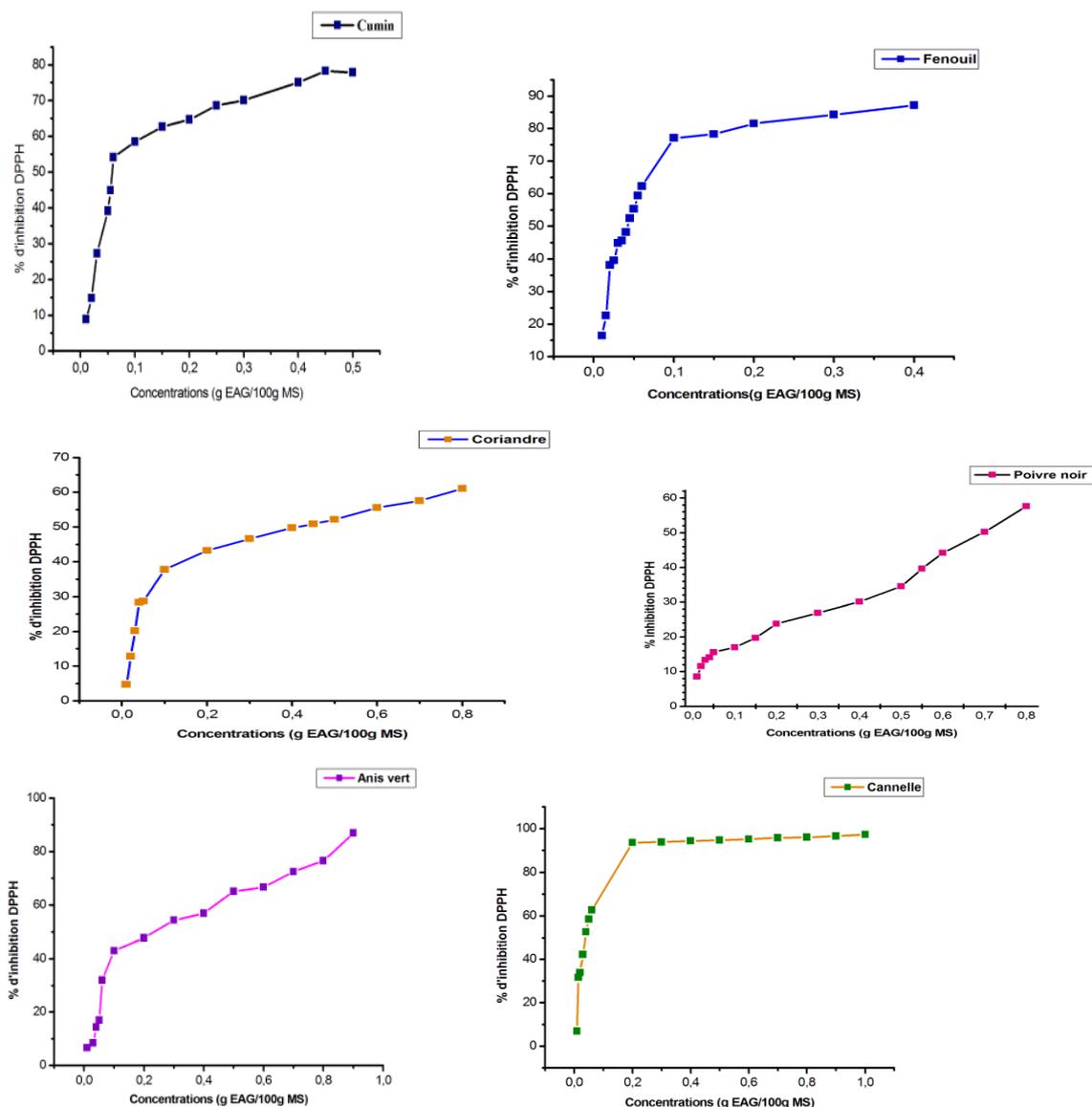


Figure 19: Pourcentage d'inhibition du radical libre DPPH en fonction des différentes concentrations des polyphénols totaux.

- **Détermination d'IC50 :**

L'IC50 est la concentration des PT qui neutralise (réduit) 50% du radical libre (DPPH). Il est inversement proportionnel à la capacité antioxydante d'un composé, parce qu'il exprime la quantité d'antioxydante requise pour diminuer la concentration du radical libre de 50%. Plus la valeur d'IC50 est petite, plus l'activité antioxydante d'un composé est grande. Les valeurs d'IC50 pour les différents extraits sont indiquées sur la figure 20.

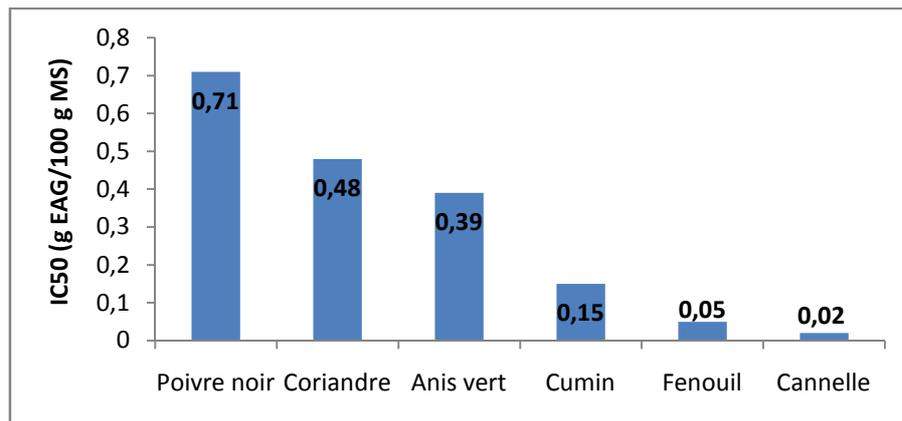


Figure 20 : Les IC50 des différents extraits

Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante par DPPH ont montré que la cannelle possède une capacité antioxydante plus importante (l'IC50 est la plus petite, sa valeur est égale à 0.02 g EAG/100 g MS). L'ordre décroissant de l'activité antioxydante est : cannelle>fenouil >cumin>anis vert >coriandre>poivre noir.

III.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences :

III.2.1. Elaboration du modèle du premier degré :

Les niveaux des facteurs sont définis dans le tableau 11 et les résultats obtenus sont déterminés dans le tableau 12.

Tableau 11 : Matrice d'expérience du plan factoriel complet à deux niveaux (modèle du 1^{er} degré) et du plan composite centré (isovariant par rotation, de précision uniforme).

		Essai N ⁰	Cte	X ₁ (Cm)	X ₂ (T)	X ₃ (t)	Z ₁ (m)	Z ₂ (T)	Z ₃ (t)
plan composite centré	plan factoriel complet à deux niveaux	1	1	-	-	-	0,5	55	5
		2	1	+	-	-	0,7	55	5
		3	1	-	+	-	0,5	85	5
		4	1	+	+	-	0,7	85	5
		5	1	-	-	+	0,5	55	15
		6	1	+	-	+	0,7	55	15
		7	1	-	+	+	0,5	85	15
		8	1	+	+	+	0,7	85	15
		9	1	0	0	0	0,6	70	10
		10	1	0	0	0	0,6	70	10
		11	1	0	0	0	0,6	70	10
		12	1	0	0	0	0,6	70	10
	13	1	0	0	0	0,6	70	10	
	14	1	0	0	0	0,6	70	10	
	15	1	-1,68	0	0	0,432	70	10	
	16	1	1,68	0	0	0,786	70	10	
	17	1	0	-1,68	0	0,6	45	10	
	18	1	0	1,68	0	0,6	95,2	10	
	19	1	0	0	-1,68	0,6	70	1,6	
	20	1	0	0	1,68	0,6	70	18,4	

Tableau 12 : Réponses (TPT et TFT) des différents extraits épices.

Essai N ^o	Réponses					
	TPT (g EAG/100 g MS)			TFT (g EQ/100 g MS)		
	Cumin graines	Cumin poudre	Poivre noir (poudre)	Cumin graines	Cumin poudre	Poivre noir (poudre)
1	0,199	0,702	0,713	0,062	0,124	0,076
2	0,137	0,619	0,788	0,0590	0,122	0,066
3	0,562	0,790	0,916	0,129	0,154	0,113
4	0,517	0,625	0,869	0,109	0,147	0,087
5	0,437	0,731	0,857	0,099	0,132	0,076
6	0,416	0,576	0,685	0,088	0,124	0,070
7	0,521	0,887	0,736	0,111	0,159	0,096
8	0,637	0,524	0,872	0,128	0,149	0,072
9	0,492	0,590	0,881	0,088	0,156	0,078
10	0,495	0,596	0,856	0,093	0,148	0,070
11	0,538	0,597	0,890	0,104	0,154	0,072
12	0,490	0,585	0,904	0,098	0,153	0,078
13	0,496	0,606	0,867	0,099	0,151	0,085
14	0,516	0,598	0,808	0,102	0,159	0,081
15	0,487	0,679	0,374	0,101	0,175	0,038
16	0,597	0,462	0,940	0,124	0,158	0,110
17	0,572	0,585	0,548	0,130	0,134	0,051
18	0,365	0,665	0,680	0,072	0,169	0,076
19	0,538	0,669	0,647	0,120	0,174	0,064
20	0,3653	0,671	0,735	0,076	0,168	0,064

D'après les résultats du tableau 12, la teneur en **PT** des différents extraits varie entre :

- 0,13 et 0,63 g EAG/100g MS pour le cumin graines.
- 0,46 et 0,88 g EAG/100g MS pour le cumin poudre.
- 0,37 et 0,94 g EAG/100g MS pour le poivre noir.

La teneur en **FT** des différents extraits varie entre :

- 0,06 et 0,13 g EQ/100g MS pour le cumin graines.
- 0,05 et 0,13 g EQ/100g MS pour le cumin poudre.
- 0,03 et 0,11 g EQ/100g MS pour le poivre noir.

Ce qui confirme l'influence des paramètres sélectionnés (temps, température et la concentration massique) sur le taux d'extraction des PT et FT.

a. Cumin poudre**➤ Elaboration du modèle de 1^{er} degré :****❖ Test de signification des coefficients :**

L'application du test statistique de Student (Equations 8 et 9), permet de vérifier la signification des coefficients et d'en éliminer les non significatives, Tableau 13

S: Significatif

NS: Non Significatif

Les équations du modèle :

Polyphénols :

$$Y = 0,682 - 0,095 * X_1 + 0,024 * X_2 - 0,036 * X_1 * X_2 - 0,034 * X_1 * X_3 - 0,016 * X_1 * X_2 * X_3$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 6.
- ✓ Tous les paramètres étudiés ont un effet sur la réponse mis à part le temps.
- ✓ La C_m (X_1) influe négativement sur la teneur en PT sur le domaine [0.5 à 0.7 g/100ml] (TPT augmente avec la diminution de la concentration massique).
- ✓ L'effet de la température (X_2) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de la température).
- ✓ L'interaction triple a un effet négatif sur la réponse.
- ✓ L'effet du temps (X_3) se manifeste dans l'interaction double avec la C_m et dans l'interaction triple.

Flavonoïdes :

$$Y = 0,139 - 0,003 * X_1 + 0,014 * X_2$$

Nous remarquons que :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✓ Tous les paramètres étudiés ont un effet sur la réponse mis à part le temps.
- ✓ Le coefficient de la concentration massique (X_1) est négatif, la masse influe négativement sur la TFT, cela signifie qu'en augmentant la MS par ml d'eau utilisée pour l'infusion, la TFT diminue.
- ✓ L'effet de la température (X_2) influe positivement sur la réponse (TFT augmente avec l'augmentation de la température).
- ✓ Les effets linéaires b_{12} , b_{13} , b_{23} sont nuls.

Tableau 13: Coefficient des modèles du 1^{er} degré et leur signification

	Coefficient	Valeur	Ecart-type (sbj)	t de Student	$t_{\text{tabulé}}$ $f=N_0-1=5,$ $1-\alpha/2=0,975$	Coefficients non significatifs
Polyphénols	b_0	0,682		268,256	2,571	S
	$b_1 \rightarrow \text{Cm}$	-0,096		37,569		S
	$b_2 \rightarrow \text{T}$	0,025		9,7140		S
	$b_3 \rightarrow t$	0		0,9010		NS
	b_{12}	-0,036	0,0025	14,242		S
	b_{13}	-0,034		13,262		S
	b_{23}	0		0,573		NS
	b_{123}	-0,016		6,129		S
Flavonoïdes	b_0	0,139		111,984	2,571	S
	$b_1 \rightarrow \text{Cm}$	-0,003		2,768		S
	$b_2 \rightarrow \text{T}$	0,014		10,915		S
	$b_3 \rightarrow t$	0	0,0012	1,629		NS
	b_{12}	0		0,716		NS
	b_{13}	0		0,870		NS
	b_{23}	0		0,245		NS
	b_{123}	0		0,189		NS

❖ Test de validité des modèles (recherche de biais)

La validité du modèle est déterminée par le test F de Fisher (Equation12), qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance reproductibilité (S^2_{rep}).

Le tableau 14 rassemble les résultats de l'analyse de la variance.

- **Les polyphénols :**

La valeur F calculée (0,5703) est inférieure à la valeur tabulée (5,79) donc le modèle n'est pas biaisé, il est donc valide.

- **Les flavonoïdes :**

La valeur F calculée (0,804) est inférieure à la valeur tabulée (5,05) donc le modèle n'est pas biaisé, il est donc valide.

Tableau 14 : Analyse de la variance –recherche d'un biais

	Variances	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré Moyen	F ₁ (Fisher-Snedecor)	F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =N-P, f ₂ =N ₀ -1=5
Polyphénols	Variance résiduelle	5,899*10 ⁻⁵	2	2,949*10 ⁻⁵	0,5703	5,79
	Variance reproductible	2,586*10 ⁻⁴	5	5,172*10 ⁻⁵		
Flavonoïdes	Variance résiduelle	4,977*10 ⁻⁰⁵	5	9,954*10 ⁻⁶	0,804	5,05
	Variance reproductible	6,187*10 ⁻⁵	5	1,237*10 ⁻⁵		

❖ **Test de la signification globale de la régression**

La signification globale de la régression est vérifiée par le test F de Fisher (Equation 14), qui compare la variance due à la régression S^2_{reg} à la variance résiduelle S^2_{res} (Tableau15).

Pour chacun des polyphénols et flavonoïdes :

$F_{calculé} > F_{tabulé}$, la régression est significative (le modèle est validé à 95%).

Tableau 15 : Analyse de la variance - Signification globale de la régression

	Source de Variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré Moyen	F ₂ (Fisher-Snedecor)	F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =P, f ₂ =N-P
Polyphénols	Régression	3,8214	6	0,637	2,159*10 ⁴	19,3
	Variance résiduelle	5,899*10 ⁻⁵	2	2,949*10 ⁻⁵		
Flavonoïdes	Régression	0,1567	3	9,954*10 ⁻⁰⁶	5,249*10 ³	
	Variance résiduelle	4,977*10 ⁻⁰⁵	5	1,237*10 ⁻⁰⁵		

Tableau 16 : Calcul des résidus des modèles de 1^{er} degré

Essai n ^o	Y Expérimentale		Modèle linéaire			
			y calculée		Ecart Y _{exp} - Y _{cal}	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT
1	0,702	0,121	0,732	0,1291	-0,0299	-0,004
2	0,619	0,122	0,582	0,1223	0,0374	-0,0001
3	0,790	0,154	0,750	0,1563	0,0395	-0,002
4	0,625	0,148	0,663	0,1495	-0,0379	-0,002
5	0,731	0,132	0,773	0,1291	-0,0424	0,003
6	0,576	0,124	0,541	0,1223	0,0348	0,002
7	0,887	0,159	0,854	0,1563	0,0329	0,003
8	0,524	0,149	0,559	0,1495	-0,0345	-0,0001
9	0,590	0,156	0,682	0,1393	-0,0918	0,017
10	0,596	0,149	0,682	0,1393	-0,0853	0,009
11	0,597	0,154	0,6821	0,1393	-0,0850	0,015
12	0,585	0,153	0,6821	0,1393	-0,0964	0,012
13	0,606	0,151	0,6821	0,1393	-0,0755	0,013
14	0,598	0,159	0,6821	0,1393	-0,0835	0,019

Estimation des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT :

Les coefficients de corrélation obtenus en utilisant les équations 16 et 17, ont des valeurs de :

$R^2=0,998$ et $R^2_{\text{corrigé}}=0,995$ pour la réponse TPT.

$R^2=0,971$ et $R^2_{\text{corrigé}}=0,953$ pour la réponse TFT.

Les résultats du tableau 16 permettent de juger de manière plus précise la qualité de l’ajustement réalisé. Les valeurs des écarts entre Y_{exp} (réponse mesurées)et Y_{cal} (réponses prédite par le modèle) sont négligeables, elles confirment que l’ajustement est de bonne qualité, ce qui valide le modèle du plan d’expérience avec des coefficients de régression R^2 de 0,998 et 0,971 pour les réponses TPT et TFT respectivement.Ceci signifie aussi que uniquement 0,002 et 0,029 ne sont pas expliqués par le modèle, de plus les valeurs du coefficient corrigé sont élevées ($R^2_{\text{corrigé}} =0,995$ et $0,953$), ce qui confirme la haute significativité du modèle.

❖ **Elaboration du modèle de 2^{ème} degré**

Tableau 17 : Coefficient du modèle quadratique complet avec signification de chaque coefficient

Coefficient	Valeur		Ecart-type		t de Student		$t_{\text{tabulé}}$ $f=N_0-1=5,$ $1-\alpha/2=0,975$	Coefficients non significatifs	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT		PT	FT
b_0	0,594	0,155	0,003	0,0014	202,47	107,9	2,571	S	S
$b_1 \rightarrow \text{Cm}$	-0,083	-0,004	0,002	0,0010	42,471	4,389		S	S
$b_2 \rightarrow \text{T}$	0,024	0,012	0,002	0,0010	12,542	12,85		S	S
$b_3 \rightarrow \text{t}$	0	0	0,002	0,0010	0,544	0,575		NS	NS
b_{12}	-0,036	0	0,002	0,0012	14,241	0,717		S	NS
b_{13}	-0,033	0	0,003	0,0012	13,261	0,871		S	NS
b_{23}	0	0	0,003	0,0012	0,573	0,245		NS	NS
b_{11}	0	0	0,002	0,0009	1,884	0,710		NS	NS
b_{22}	0,023	-0,006	0,002	0,0009	12,025	6,541		S	S
b_{33}	0,039	0	0,002	0,0009	20,424	1,028		S	NS

Après l’élimination par le test de student des coefficients non significatifs le modèle du second degré s’écrit :

Polyphénols

$$Y = 0.594 - 0.083 * X_1 + 0.024X_2 - 0.036 * X_1 * X_2 - 0.033 * X_1 * X_3 + 0.023 * X_2^2 + 0.039X_3^2$$

Flavonoïdes :

$$Y = 0.155 - 0.004X_1 + 0.012X_2 - 0.006X_2^2$$

❖ **Test de validité du modèle de second degré****Polyphénols**

Les valeurs de la variance de reproductibilité S^2_{rep} estimée au centre du domaine et de la variance résiduelle $S^2_{rés}$ calculée pour $N=20$ et $p=7$ (p étant le nombre de coefficients significatifs et N le nombre totale des essais du plan composite) sont :

$$S^2_{rep} = 5,17 * 10^{-5}, S^2_{rés} = 0,0013.$$

Ce qui conduit à une valeur de $F1 = S^2_{rés} / S^2_{rep} = 24,32$.

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f1 = (N0-1) = 5$ et $f2 = (N-p) = 13$ est de 4,65.

Comme la valeur de $F1$ calculée est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher, le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

Flavonoïdes

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f1 = (N0-1) = 5$ et $f2 = (N-p) = 16$ est de 4,59.

Comme la valeur de $F1$ calculée (10,69) est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher (4,59), le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

b-Cumin graines➤ **Elaboration du modèle de premier degré**❖ **Test de signification des coefficients**

L'application du test statistique de Student (Equations 8 et 9), permet de vérifier la signification des coefficients et d'en éliminer les non significatives (Tableau 18).

Tableau 18 : Coefficient du modèle linéaire complet avec signification de chaque coefficient

	Coefficient	Valeur	Ecart-type (sbj)	t de Student	$t_{\text{tabulé}}$ $f=N_0-1=5,$ $1-\alpha/2=0,975$	Coefficients non significatifs
Polyphénols	b_0	0,4287	0,0066	64,7059	2,571	S
	$b_1 \rightarrow \text{Cm}$	0		0,2364		Ns
	$b_2 \rightarrow \text{T}$	0,131		19,7728		S
	$b_3 \rightarrow \text{t}$	0,075		11,2500		S
	b_{12}	0,019		2,9010		S
	b_{13}	0,025		3,8185		S
	b_{23}	-0,055		8,2869		S
	b_{123}	0		2,2785		Ns
Flavonoïdes	b_0	0,099	0,0022	44,846	2,571	S
	$b_1 \rightarrow \text{Cm}$	0		1,040		Ns
	$b_2 \rightarrow \text{T}$	0,0212		9,617		S
	$b_3 \rightarrow \text{t}$	0,009		3,858		S
	b_{12}	0		0,635		Ns
	b_{13}	0		1,633		Ns
	b_{23}	-0,008		3,703		S
	b_{123}	0		2,506		Ns

Les équations du modèle :

Polyphénols

$$Y = 0,429 + 0,131 * X_2 + 0,075 * X_3 + 0,019 * X_1 * X_2 + 0,025 * X_1 * X_3 - 0,055 * X_2 * X_3.$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 6,
- ✓ Tous les paramètres étudiés ont effet sur la réponse mis à part la masse.
- ✓ L'effet de la température (X_2) et le temps (X_3) influent positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de ces derniers).
- ✓ L'effet de la température sur la réponse est le plus important (0,131).

- ✓ Les effets b_1 , b_{123} sont nuls.
- ✓ L'effet C_m se manifeste dans l'interaction double avec la température et aussi avec le temps.

Flavonoïdes

$$Y = 0.099 + 0.021 * X_2 + 0.009 * X_3 - 0.0081 * X_2 * X_3$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 4.
 - ✓ Tous les paramètres étudiés ont un effet positif sur la réponse mis à part la masse.
 - ✓ L'effet de la température sur la réponse est le plus important (0,021).
 - ✓ Les effets b_1 , b_{12} , b_{13} , b_{123} sont nuls.
- **Test de validité du modèle (recherche de biais)**

La validité du modèle est déterminée par le test F de Fisher (Equation 12), qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance reproductibilité (S^2_{rep}).

Le tableau 19 rassemble les résultats de l'analyse de la variance

Polyphénols :

La valeur F calculée (2,623) est inférieure à la valeur tabulée (5,79) donc le modèle n'est pas biaisé, il est donc valide.

Flavonoïdes :

La valeur F calculée (1,037) est inférieure à la valeur tabulée (5,19) donc le modèle n'est pas biaisé, il est donc valide.

Tableau 19 : Analyse de variance - Recherche d'un biais

	Variances	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F ₁ (Fisher-Snedecor)	F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =N-P, f ₂ =N ₀ - 1=5
Polyphénols	Variance résiduelle	0,0018	2	9,215*10 ⁻⁴	2,623	5,79
	Variance reproductible	0,0017	5	3,512*10 ⁻⁴		
Flavonoïdes	Variance résiduelle	1,606*10 ⁻⁴	4	4,015*10 ⁻⁵	1,037	5,19
	Variance reproductible	1,934*10 ⁻⁴	5	3,869*10 ⁻⁵		

❖ **Test de la signification globale de la régression**

La signification globale de la régression est vérifiée par le test F de Fisher (Equation 14), qui compare la variance due à la régression S^2_{reg} à la variance résiduelle S^2_{res} (Tableau 20).

Pour chacun des polyphénols et flavonoïdes :

$F_{calculé} > F_{tabulé}$, la régression est significative (le modèle est validé à 95%).

Tableau 20 : Analyse de la variance-signification globale de la régression

	Source de Variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F ₂ (Fisher-Snedecor)	F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =P, f ₂ =N-P
Polyphénols	Régression	1,684	6	0,280	3,046*10 ²	19,03
	Variance résiduelle	0,0018	2	9,215*10 ⁻⁴		
Flavonoïdes	Régression	0,082	4	0,0207	5,151*10 ²	6,39
	Variance résiduelle	1,606*10 ⁻⁴	4	4,015*10 ⁻⁵		

Tableau 21 : Calcul des résidus des modèles de 1^{er} degré

Essais n ⁰	y expérimentale		Modèle linéaire			
			Y calculé		Ecart y _{exp} - y _{cal}	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT
1	0,199	0,063	0,195	0,061	0,004	0,002
2	0,137	0,059	0,141	0,061	-0,004	-0,002
3	0,562	0,129	0,563	0,119	-0,0006	0,010
4	0,517	0,109	0,516	0,119	0,0006	-0,001
5	0,437	0,099	0,403	0,094	0,034	0,006
6	0,416	0,088	0,450	0,094	-0,034	-0,005
7	0,521	0,112	0,552	0,120	-0,030	-0,008
8	0,637	0,128	0,607	0,120	0,031	0,008
9	0,492	0,088	0,429	0,099	0,0637	-0,010
10	0,495	0,093	0,429	0,099	0,0667	-0,006
11	0,538	0,104	0,429	0,099	0,109	0,006
12	0,490	0,098	0,429	0,099	0,062	-0,0006
13	0,497	0,099	0,429	0,099	0,068	0,001
14	0,516	0,103	0,429	0,099	0,088	0,004

Estimation des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT :

Les coefficients de corrélation obtenus en utilisant les équations 16,17 ont des valeurs de :

$R^2 = 0,99$ et $R^2_{\text{corrigé}} = 0,96$ pour la réponse TPT.

$R^2=0,92$ et $R^2_{\text{corrigé}}=0,84$ pour la réponse TFT.

Les résultats du tableau 21 permettent de juger de manière plus précise la qualité de l’ajustement réalisé, Les valeurs des écarts entre Y_{exp} (réponse mesurées) et Y_{cal} (réponses prédite par le modèle) sont négligeables.Elles confirment que l’ajustement est de bonne qualité, ce qui valide le modèle du plan d’expérience avec des coefficients de régression R^2 de 0,99 et 0,92 pour les réponses TPT et TFT respectivement, ce qui signifie que uniquement 0,01 et 0,08 ne sont pas expliqués par le modèle, De plus les valeurs des coefficient corrigés sont élevées ($R^2_{\text{corrigé}}=0,96$ et $0,84$), ce qui confirme la haute significativité du modèle.

- **Elaboration du modèle de 2^{ème} degré**

Tableau 22 : Coefficient du modèle quadratique complet avec signification de chaque coefficient

Coefficient	Valeur		Ecart-type		t de Student		$t_{\text{tabulé}}$ $f=N_0-1=5,$ $1-\alpha/2=0,975$	Coefficients non significatifs	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT		PT	FT
b_0	0,507	0,098	0,008	0,003	66,320	38,619	2,571	S	S
$b_1 \rightarrow Cm$	0	0	0,005	0,002	2,495	0,967		NS	NS
$b_2 \rightarrow T$	0,051	0,005	0,005	0,002	10,137	3,149		S	S
$b_3 \rightarrow t$	0,022	0	0,005	0,002	4,419	0,241		S	NS
b_{12}	0,019	0	0,007	0,002	2,901	0,635		S	NS
b_{13}	0,025	0	0,007	0,002	3,819	1,633		S	NS
b_{23}	-0,055	-0,008	0,007	0,002	8,287	3,703		S	S
b_{11}	0	0	0,005	0,002	0,228	2,457		NS	NS
b_{22}	-0,025	0	0,005	0,002	5,064	0,068		S	NS
b_{33}	-0,031	0	0,005	0,002	6,297	0,646		S	NS

Après l’élimination par le test de Student des coefficients non significatifs le modèle du second degré s’écrit :

Polyphénols :

$$Y = 0,507 + 0,051 * X_2 + 0,022 * X_3 + 0,019 * X_1 * X_2 + 0,025 * X_1 * X_3 - 0,055 * X_2 * X_3 - 0,025 * X_2^2 - 0,031 * X_3^2.$$

Flavonoïdes :

$$Y = 0,098 + 0,005 * X_2 - 0,008 * X_2 * X_3$$

- **Test de validité du modèle de second degré**

Polyphénols

Les valeurs de la variance de reproductibilité S^2_{rep} estimée au centre du domaine et de la variance résiduelle $S^2_{rés}$ calculée pour $N=20$ et $p=8$ (p étant le nombre de coefficients significatifs et N le nombre totale des essais du plan composite) sont :

$$S^2_{rep} = 3,51 * 10^{-4}, S^2_{rés} = 0,016.$$

Ce qui conduit à une valeur de $F1 = S^2_{rés} / S^2_{rep} = 46,36$.

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f1 = (N0-1) = 5$ et $f2 = (N-p) = 12$ est de 4,68.

Comme la valeur de $F1$ calculée est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher, le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

Flavonoïdes

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f1 = (N0-1) = 5$ et $f2 = (N-p) = 17$ est de 4,59.

Comme la valeur de $F1$ calculée (11,64) est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher (4,59), le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

c-Poivre noir :

- **Elaboration du modèle du premier degré :**

- ❖ **Test de signification des coefficients**

L'application du test statistique de Student (Equation 8,9), permet de vérifier la signification des coefficients et d'en éliminer les non significatives (Tableau 23)

Tableau 23 : Coefficient des modèles du 1^{er} degré et leur signification

	Coefficient	Valeur	Ecart-type(sbj)	t de Student	t _{tabulé} f=N ₀ -1=5, 1-α/2=0,975	Coefficients non significatifs
Polyphénols	b₀	0,805		67,257		S
	b₁→Cm	0		0,079		Ns
	b₂→ T	0,044		3,644		S
	b₃→ t	0		1,413		Ns
	b₁₂	0	0,0120	1,933	2,571	Ns
	b₁₃	0		0,673		Ns
	b₂₃	0		2,287		Ns
	b₁₂₃	0,054		4,493		S
Flavonoïdes	b₀	0,083		40,252		S
	b₁→Cm	-0,008		3,970		S
	b₂→ T	0,010		4,955		S
	b₃→ t	0		1,653		Ns
	b₁₂	0	0,0021	2,048	2,571	Ns
	b₁₃	0		0,263		Ns
	b₂₃	0		2,189		Ns
	b₁₂₃	0		0,132		Ns

Les équations du modèle :

Polyphénols :

$$Y = 0,805 + 0,044 * X_2 + 0,053 * X_1 * X_2 * X_3$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✓ Juste le paramètre (X₂ : température) qui a un effet sur la réponse.
- ✓ L'effet de la température (X₂) influe positivement sur la réponse (TPT augmente avec l'augmentation de ces derniers).

- ✓ L'effet de la température sur la réponse est le plus important (0,044).
- ✓ Les effets b_1 , b_3 , b_{12} , b_{13} , b_{23} , b_{123} sont nuls.
- ✓ L'interaction triple a un effet positif sur la réponse.

Flavonoïdes :

$$Y = 0,083 - 0,008 * X_1 + 0,010 * X_2$$

Nous remarquons :

- ✓ Le nombre de coefficients significatifs est égal à 3.
- ✓ La C_m influe négativement sur la réponse.
- ✓ La température influe positivement sur la réponse.
- ✓ L'effet de la température est le plus important (0.01).
- ✓ Les effets b_3 , b_{12} , b_{13} , b_{23} , b_{123} sont nuls.

❖ Test de validité du modèle (recherche de biais)

La validité du modèle est déterminée par le test F de Fisher (Equation 12), qui compare la variance résiduelle (S^2_{res}) à la variance reproductibilité (S^2_{rep})

Le tableau 24 rassemble les résultats de l'analyse de la variance

Polyphénols :

La valeur F calculée (2,285) est inférieure à la valeur tabulée (5,05) donc le modèle n'est pas biaisé, il est donc valide.

Flavonoïdes :

La valeur F calculée (2,361) est inférieure à la valeur tabulée (5,05) donc le modèle n'est pas biaisé, il est donc valide

Tableau 24 : Analyse de la variance - Recherche d'un biais

	Variations	Somme des carrés	Degré de Liberté	Carré moyen	F ₁ (Fisher-Snedecor)	F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =N-P, f ₂ =N ₀ -1=5
Polyphénols	Variance résiduelle	0,0131	5	0,003	2,285	5,05
	Variance reproductible	0,006	5	0,001		
Flavonoïdes	Variance résiduelle	3,969*10 ⁻⁴	5	7,938*10 ⁻⁵	2,361	
	Variance reproductible	1,681*10 ⁻⁴	5	3,362*10 ⁻⁵		

❖ Test de la signification globale de la régression

La signification globale de la régression est vérifiée par le test F de Fisher (équation 14), qui compare la variance due à la régression S^2_{reg} à la variance résiduelle S^2_{res} (Tableau 25).

Pour chacun des polyphénols et flavonoïdes on a :

$F_{calculé} > F_{tabulé}$, la régression est significative (le modèle est validé à 95%).

Tableau 25 : Analyse de la variance _ signification globale de la régression

	Source de variation	Somme des carrés	Degré de liberté	Carré moyen	F ₂ (Fisher-Snedecor)	F _{tabulé} p=0,95, f ₁ =P, f ₂ =N-P
Polyphénols	Régression	5,223	3	1,741	6,647*10 ⁺²	4,51
	Variance résiduelle	0,0131	5	0,0026		
Flavonoïdes	Régression	0,059	3	0,018	2,344*10 ⁺²	5,41
	Variance résiduelle	3,969*10 ⁻⁴	5	7,938*10 ⁻⁵		

Tableau 26 : Calcul des résidus des modèles de 1^{er} degré

Essai n ^o	Y Expérimentale		Modèle linéaire			
			Y calculée		Ecart Y _{exp} - Y _{cal}	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT
1	0,713	0,076	0,8153	0,0804	-0,102	-0,004
2	0,789	0,067	0,8153	0,0642	-0,027	0,002
3	0,917	0,113	0,7949	0,1008	0,122	0,012
4	0,869	0,089	0,7949	0,0846	0,075	0,003
5	0,858	0,077	0,7077	0,0804	0,150	-0,004
6	0,686	0,070	0,7077	0,0642	-0,023	0,006
7	0,736	0,097	0,9025	0,1008	-0,166	-0,004
8	0,872	0,073	0,9025	0,0846	-0,030	-0,012
9	0,881	0,078	0,8051	0,0825	0,076	-0,004
10	0,857	0,071	0,8051	0,0825	0,052	-0,012
11	0,891	0,0719	0,8051	0,0825	0,086	-0,011
12	0,901	0,079	0,8051	0,0825	0,099	-0,004
13	0,868	0,086	0,8051	0,0825	0,062	0,003
14	0,808	0,081	0,8051	0,0825	0,003	-0,001

Estimation des coefficients de détermination pour les réponses TPT et TFT :

Les coefficients de corrélation obtenus en utilisant les équations 16,17 ont des valeurs de :

$R^2=0,74$ et $R^2_{\text{corrigé}} = 0,59$ pour la réponse TPT.

$R^2=0,77$ et $R^2_{\text{corrigé}} = 0,63$ pour la réponse TFT.

Les résultats du tableau 26 permettent de juger de manière plus précise la qualité de l'ajustement réalisé, Les valeurs des écarts entre Y_{exp} (réponse mesurées) et Y_{cal} (réponses prédite par le modèle) sont négligeables. Elles confirment que l'ajustement est de bonne qualité, ce qui valide le modèle du plan d'expérience avec des coefficients de régression R^2 de 0,74 et 0,59 pour les réponses TPT et TFT respectivement, ce qui signifie que uniquement 0,26 et 0,23 ne sont pas expliqués par le modèle, De plus les valeurs du coefficient corrigés sont élevées ($R^2_{corrigé} = 0,59$ et $0,63$), ce qui confirme la haute significativité du modèle.

III.2.2. Elaboration du modèle de 2^{ème} degré

Tableau 27 : Coefficient du modèle quadratique complet avec signification de chaque coefficient

Coefficient	Valeur		Ecart-type		t de Student		t _{tabulé} f=N ₀ - 1=5, 1- α/2=0,9 75	Coefficients non significatifs	
	PT	FT	PT	FT	PT	FT		PT	FT
b₀	0,863	0,077	0,014	0,002	62,490	32,669	2,571	S	S
b₁→Cm	0,069	0,004	0,009	0,002	7,547	2,579		S	S
b₂→ T	0,042	0,009	0,009	0,002	4,564	5,828		S	S
b₃→ t	0	0	0,009	0,002	0,089	1,249		NS	NS
b₁₂	0	0	0,012	0,002	1,933	2,048		NS	NS
b₁₃	0	0	0,012	0,002	0,673	0,263		NS	NS
b₂₃	0	0	0,012	0,002	2,287	2,189		NS	NS
b₁₁	-0,040	0	0,009	0,002	4,478	1,366		S	NS
b₂₂	-0,055	0	0,009	0,002	6,186	1,018		S	NS
b₃₃	-0,028	0	0,009	0,002	3,120	1,009	S	NS	

Après l'élimination par le test de Student des coefficients non significatifs le modèle du second degré s'écrit :

Polyphénols :

$$Y = 0,863 + 0,069 * X_1 + 0,042 * X_2 - 0,040 * X_1^2 - 0,055 * X_2^2 - 0,028 * X_3^2$$

Flavonoïdes :

$$Y = 0,77 + 0,004X_1 + 0,009X_2$$

- **Test de validité du modèle de second degré :**

Polyphénols :

Les valeurs de la variance de reproductibilité S^2_{rep} estimée au centre du domaine et de la variance résiduelle $S^2_{rés}$ calculée pour $N=20$ et $p=6$ (p étant le nombre de coefficients significatifs et N le nombre totale des essais du plan composite) sont :

$$S^2_{rep} = 0,0011, \quad S^2_{rés} = 0,016.$$

Ce qui conduit à une valeur de $F1 = S^2_{rés} / S^2_{rep} = 14,72$,

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f1 = (N0-1) = 5$ et $f2 = (N-p) = 14$ est de 4,65.

Comme la valeur de $F1$ calculée est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher, le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

Flavonoïdes :

La valeur tabulée du F de Fisher pour le niveau de signification $\alpha = 5\%$ et les nombres de degrés de liberté $f1 = (N0-1) = 5$ et $f2 = (N-p) = 17$ est de 4,59,

Comme la valeur de $F1$ calculée (7,68) est nettement supérieure à la valeur tabulée du test de Fisher (4,59), le modèle est donc biaisé ; il n'est pas valide.

Conclusion

D'après les résultats obtenus on remarque que :

La TPT dans l'extrait du cumin poudre d'une moyenne de 0,67g EAG/ 100 g MS, varie entre (0,46 et 0,88 g EAG/ 100 g MS), elle est plus importante que celle obtenue pour le cumin graines de moyenne 0,28g EAG/ 100 g MS qui varie entre (0,13 et 0,63 g EAG/ 100 g MS).

Ce constat s'explique par la surface de contact entre l'épice et l'eau utilisée pour l'infusion.

Les plans d'expériences ont permis d'étudier l'influence des trois facteurs : la concentration massique C_m qui représente la masse de la matière sèche par unité de volume d'eau d'infusion, la température d'infusion et le temps d'infusion.

Nous avons constaté qu'en général, les trois facteurs influent différemment sur l'extraction des PT et FT lors de l'infusion des épices étudiées.

La concentration massique C_m influe négativement sur l'extraction des PT cumin poudre et des FT cumin poudre et poivre noir. Elle n'a pas d'influence sur l'extraction des PT poivre noir et FT cumin grain. Elle se manifeste dans les interactions double et triple dans l'extraction des PT cumin.

Le paramètre (X_2 : température) influe positivement sur les teneurs de PT et FT des extraits de cumin et poivre noir.

Le paramètre (X_3 : temps) influe aussi positivement sur les teneurs de PT et FT des extraits de cumin graines. Ce facteur apparait uniquement dans les interactions double et triple lors de l'extraction des PT de poivre noir et cumin poudre. Il n'influe pas sur la TFT obtenue par l'infusion des extraits des poudres étudiées (cumin et poivre noir), cela signifie que le temps $t=5$ min a été suffisant pour extraire ces flavonoïdes des poudres utilisées.

III.3. Analyse par spectrométrie d'émission par plasma (ICP)

Les résultats de l'identification des différents métaux présents dans les épices étudiés, sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 28: Teneur des épices en métaux (μg Métal/g Matière sèche)

Concentration (μg Métal/g MS)	Cumin	Poivre Noir	Fenouil	Anis vert	Cannelle	Coriandre	Moyenne
Cr	0,066	0,006	0,005	0,005	0,066	0,083	0,039
Fe	0,666	0,068	0,066	0,131	0,300	1,250	0,414
Pb	0,016	0,003	0,003	0,002	0,033	0,033	0,015
Mn	1,483	0,247	0,032	0,033	7,616	0,516	1,655
Ni	0,083	0,018	0,005	0,007	0,033	0,116	0,044
As	0,083	0,001	0,003	0,002	0,050	0,016	0,026
Ba	0,166	0,027	0,007	0,017	0,983	0,166	0,228
In	0,251	0,014	0,013	0,015	0,283	0,250	0,138
Mg	0,220	4,535	0,002	0,014	18,91	0,050	3,955
Sr	3,732	0,057	0,368	0,131	0,583	1,016	0,981
Zn	1,350	0,039	0,116	0,161	0,383	1,216	0,544
Tl	0,166	0,009	0,01	0,009	0,150	0,150	0,082

L'analyse par ICP a indiqué la richesse de la plupart de nos épices en métaux tel que le Fe, Mg, Mn, Sr...

Les teneurs de ces métaux présents diffèrent d'une épice à une autre,

On remarque que :

Pour le cumin par exemple, le métal le plus dominant est le Strontium (Sr) avec une quantité de 3,73 (μg Métal/g MS), Le Magnésium (Mg) occupe la première place dans le poivre noir avec une concentration de 4,535 (μg Métal/g MS), On remarque que ce dernier se présente en grande quantité dans la cannelle avec 18,91 (μg Métal/g MS).

D'après ces résultats on peut dire que certaines épices contiennent la majorité des métaux, La variation entre ces métaux peut être liée à la provenance.

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce modeste travail est consacré à l'étude des extraits de quelques épices commercialisées sur le marché local, riches en composés phénoliques.

Les plans d'expériences ont permis d'étudier l'influence de trois facteurs : la concentration massique C_m qui représente la masse de la matière sèche par unité de volume d'eau d'infusion, la température d'infusion et le temps d'infusion.

D'après les résultats obtenus on remarque que :

➤ Le domaine d'études :

La concentration massique [0.5 à 0.6 g/100ml d'eau].

La température [55°C: 85°C].

Le temps [5min à 15min].

- La TPT dans l'extrait du cumin poudre est d'une moyenne de 0,67 g EAG/ 100 g MS. Elle est plus importante que celle obtenue dans le cumin graines de moyenne 0,28 g EAG/ 100 g MS. Ce constat s'explique par la différence de la surface de contact entre l'épice et l'eau utilisée pour l'infusion.
- Le paramètre (X1 : concentration massique) influe négativement sur l'extraction des PT cumin poudre et des FT cumin poudre et poivre noir. Elle n'a pas d'influence sur l'extraction des PT poivre noir et FT cumin graines. Elle se manifeste dans les interactions double et triple dans l'extraction des PT cumin.
- Le paramètre (X2 : température) influe positivement sur les teneurs des PT et FT des extraits de cumin et poivre noir.
- Le paramètre (X3 : temps) influe aussi positivement sur les teneurs des PT et FT des extraits de cumin graines. Ce facteur apparait uniquement dans les interactions double et triple lors de l'extraction des PT de poivre noir et cumin poudre. Il n'influe pas sur la TFT obtenue par l'infusion des extraits des poudres étudiées (cumin et poivre noir), cela signifie que le temps $t=5$ min a été suffisant pour extraire ces flavonoïdes des poudres utilisées.
- Nous avons constaté qu'en général, que les trois facteurs influent différemment sur l'extraction des PT et FT lors de l'infusion des épices étudiées.

- Le dosage quantitatif par le FC a révélé que l'anis vert est le plus riche en polyphénols totaux avec une quantité de 1,32 g EAG/100 g MS. L'ordre décroissant en TPT est comme suit : anis vert > cannelle > poivre noir > fenouil > coriandre > cumin.
- Le dosage quantitatif par le $AlCl_3$ a révélé que Le cumin est le plus riche en flavonoïdes totaux avec une quantité de 0,13 g EQ/100 g MS. L'ordre décroissant en TFT est comme suit : cumin > l'anis vert > poivre noir > cannelle > fenouil > coriandre.
- Les résultats de l'étude de l'activité antioxydante par DPPH ont montré que la cannelle possède une capacité antioxydante plus importante (l'IC₅₀ est la plus petite, sa valeur est égale à 0,02 g EAG/100 g MS). L'ordre décroissant de l'activité antioxydante est : cannelle > fenouil > cumin > anis vert > coriandre > poivre noir.
- L'analyse par spectroscopie plasma à couplage inductif (ICP) a révélé la présence d'au moins 12 métaux dans les extraits d'infusion des épices étudiées. d'où le (Mg) représente la teneur la plus élevée, d'une moyenne de 3,955 μg Métal/g MS, et la variation entre ces métaux peut être liée à la provenance.

**Références
bibliographique**

Références bibliographiques

- [1] **BOUKRI Nour El Houda (2014)**. Contribution à l'étude phytochimique des extraits bruts des épices contenus dans le mélange Ras-el-hanout. ». Thèse de doctorat, Université KASDI MERBAH Ouargla.
- [2] **MANANDHAR NP (1995)**. « Substitute spice in Nepal. Journal of Herbs. Spices and Medicinal Plants » p7-77.
- [3] **ACHAT SABIHA (2013)**. Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A.MIRA – Bejaia.
- [4] **Abdou Bouba Armand (2009)**. Contribution à l'étude du développement d'un aliment fonctionnel à base d'épices du Cameroun : caractérisation physico chimique et fonctionnelle. Thèse de doctorat, ENSAI Ngaoundéré.
- [5] **ATTI Ikram (2014)**. Evaluation des activités antioxydant et anti radicalaire d'un mélange d'épices « Ras el hanout ». Thèse de doctorat, Université KASDI MERBAH Ouargla.
- [6] **François-Bernard Huyghe, (1995)**. Les coureurs d'épices, Paris, J-C. Lattès,
- [7] **DRONIOU CASSARO (2012)**. Les épices .les symposiarques. p1-6.
- [8] **GHILANI Hayet et RAMDANE Sara (2016)**. Impact du traitement thermique sur le contenu de quelques épices en métabolites secondaires. .Mémoire de fin de cycle. Université KASDI MERBAH Ouargla.
- [9] **REDHEAD J., 1990**. Utilisation des aliments tropicaux: sucres, épices et stimulants organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture, p19-20.
- [10] **BEN ABDELKADER Houcin (2008)**. Effet de la dose d'irradiation sur la conservation des épices. Thèse de doctorat. Université du 7 Novembre à Carthage.
- [11] **Ernest S et Grace D (2001)**. Herbes culinaires pour nos jardins de pays froids. Ed ISMANT. Canada. P73, 75,82.
- [12] **Baker W-L (2008)**. Effect of Cinnamon on Glucose Control and Lipid Parameters Diabètes Care. Université du Connecticut. January. Vol 31. Pages 41-43.
- [13] **Sophie O, (2015)**. Cures de Soupes Santé-Détox: 100 soupes magiques anti ballonnements, minceur. Ed LEDUQ. P51, 52.

Références bibliographiques

- [14] Sorlot F-X (2014). Alimentation santé, alimentation plaisir, une question d'équilibre. Ed LANOR. Paris. P216.
- [15] BREMNESS L (2002). Plantes aromatiques et médicinales. *Bordas. Paris.*
- [16] VICAN P (2001). Encyclopédie des plantes médicinales. *Larousse (Ed). Paris*, p 355.
- [17] BABULKA P (2004). Les plantes de nos tisanes : L'anis vert (*Pimpinella anisum* L) vol 2. p 57-59.
- [18] FAO (1990). Utilisation des aliments tropicaux : sucres, épices et stimulants. Ed FAO. Rome. P42.
- [19] ALIX L-D (2012). Les épices c'est malin, cannelle, clou de girofle, poivre... Leurs bienfaits et toutes leurs utilisations méconnues pour la santé, la beauté et la maison. Ed LEDUC. Paris. P9, 14, 15.
- [20] Pascale D (2012). Mes petites recettes magiques au curcuma : Alliée digestive unique, anti cholestérol, anti cancer... l'épice aux mille vertus. Ed LEDUC. Paris. P13, 14, 35,39.
- [21] Lille, (2004). Progrès en dermato-allergologie. Ed JOHN LIBBEY EUROTEXT. p 59, 63,64.
- [21] J. Hadj-salem (2009). Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitraria retusa* et synthèse de dérivés acyles de ces molécules par voie enzymatique. Thèse de doctorat. Institut-national polytechnique de lorraine.
- [22] K.SAFFIDINE (2015). « Etude analytique et biologique des flavonoïdes extraits de *Carthamus caeruleus* L. et de *Plantago major* L».Thèse de doctorat. Institut-national polytechnique de lorraine.
- [23] L. CHEBIL (2006). « Acylation des flavonoïdes par les lipases de *Candida antarctica* et de *Pseudomonas cepacia* : études cinétique, structurale et conformationnelle » thèse de doctorat. Institut national polytechnique de lorraine.
- [24] CANO N, Barnoud D, Schneider S, Vasson M. P. Hasselmann, M. Leverve X. (2006). Traité de nutrition artificielle de l'adulte. Edition Springer p 255.
- [25] Cheesman K. Slater H. (1993). An introduction to free radicals biochemistry. British Medical Bulletin.p 481-493.
- [26] Xiang Q (2007). Capillary electrophorsis amperometric determination of anatioxydant propyl gallate and butylate hydroxanisole in foods. Analytical science, p23, 713.

Références bibliographiques

- [27] **CAILLET S et LACROIX M. (2007).** « Les huiles essentielles et leur propriétés antimicrobienne et leurs applications potentielles en alimentaire » .INRS-INSTITUT ARMAND-FRAPPIER, p8, 23
- [28] **BARLOW M. (1990).** Toxicological aspects of antioxidant used as food additives. In: Food Antioxidants, Hudson B.J.F. Ed Elsevier, Amsterdam, 253-307.
- [29] **Brand-Williams, W, Cuvelier, M. E, Berset, C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Technol, 28, 25.
- [30] **A. KALLA (2012).** « Etude et valorisation des principes actifs de quelques plantes du sud algérien : *Pituranthos scoparius*, *Rantherium adpressum* et *Traganum nudatum* ». Thèse de doctorat.
- [31] **N. Benzeggouta (2015).** «Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées » Thèse de doctorat.
- [32] **J. Carlos DIAZ ROSAD (2013).** « Étude et développement de la spectroscopie d'émission optique sur plasma induit par laser pour la réalisation d'analyses de terrain : application en ligne de métaux dans les liquides ». Thèse de doctorat. Université paris-sud.
- [33] **Centre d'experts en analyse environnementale du Québec** « Méthode d'analyse et Détermination des métaux et du phosphore dans les sédiments : méthode par spectrométrie d'émission au plasma d'argon après minéralisation acide » Ed : MA. 205. 2003
- [34] **F. Denis (2011).** « Mise en application de processus analytique complexe : Analyse de métaux par ICP-AES ». Thèse de doctorat. Université paris-sud.
- [35] **Ecole des Mines de Saint-Etienne (2013).** « Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation Axe « génie des procédés centre SPIN ».
- [36] **I. YAHIAOUI (2013).** « Dégradation de composés organiques récalcitrants (phénol, colorants et antibiotiques) par oxydation électrochimique direct sur électrode de plomb couplée à un traitement biologique ». Thèse de doctorat, université de Bejaia
- [37] **D. AMOURA (2011).** « Modélisation d'un réacteur à lit fixe par la méthode des plans d'expériences ». Application à la cémentation du cuivre par la poudre de zinc, mémoire de magister, Université Abderrahmane MIRA Bejaia.
- [38] **J GOUPI (1990).** « Etude comparative de divers plans d'expériences ». Revue statistique appliquée, tome, P 5-44.

Références bibliographiques

- [39] **N. Hamaidi Née Maouche (2012).** « Modélisation Optimisation du Procédé D'adsorption du Phénol dans un Réacteur Batch par les Plans D'expériences ». Thèse de Doctorat en Sciences.
- [40] **G. Sado, M. Sado.** « Les plans d'expériences, de l'expérimentation à la qualité ». Ed AFRNOR (1991).
- [41] **I. Yahiaoui, F. Aissani-Benissad (2010).** « Experimental design for copper cementation process in fixed bed reactor using two-level factorial design. Arabian » Journal of Chemistry, p187-190.
- [42] **J. FAUCHER. (2006).** « Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue ». Thèse de doctorat. Institut nationale polytechnique de Toulouse.
- [43] **F. Gillon. (1997).** « Modélisation et optimisation par plans d'expériences un moteur a communications électroniques ». Thèse de doctorat, université de Lille France.
- [44] **F. RABIER (2007).** « Modélisation par la méthode des plans d'expériences du comportement dynamique d'un module IGBT utilisé en traction ferroviaire ». Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Toulouse.
- [45] **F.Oughlis-Hammache, N.Hamaidi –Maouche, F.Aissani-Benissad, and S.Bourouina-Bacha (2010).** Central Composite Design for the modeling of the Phenol Adsorption Process in Fixed –Bed Reactor .Journal of Chemical & Engineering Data 552489-2494.
- [46] **J. Guppy.** « Plans d'expériences pour surface de réponses ». DUNOD, Paris, (1999) P255-256.
- [47] **Ullah H, 2012.** « Fruit yield and Quality of Anise (*Pimpinella anisum* L.) in Relation to Agronomic and Environmental Factors ». Thesis. Justus Liebig. University Giessen, Germany. P5.
- [48] **Araar H (2009).** Cinnamon plant extracts: a comprehensive physico-chemical and biological study for its potentiel use as a biopesticide. Thesis. P7.
- [49] **Siddharth P et Babasaheb B-B (2014).** Effect of the environnement on content and Composition of Essential oil in Coriander. Vol 5, Issue p 2 57.
- [50] **Quezel P et Santa S, (1963).** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. Tome II. C.N.R.S. Ed Paris, p565.

Références bibliographiques

- [51] **Damanhoury et Aftab (2014)**. « A Review on Therapeutic Potential of Piper nigrum L » (Black Pepper): The King of Spices. Vol 3:3.
- [52] **Laouar A, (2013)**. Importance des plantes médicinales dans les agrosystèmes cultivés dans la région d'Ouargla. Mémoire de master. UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA. P11.
- [53] **Cavar S. Maksimovic M, Vidic D. Paris A. (2009)**. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activity of essential oil of *Artemisia annua* L. From Bosnia. Industrial Crops and Products. P479-485.
- [54] **Gadaw, A. V, Joubert, and Hansmann (1997)**. Comparaison of the Antioxidant Activity of Aspalathin with That of Other Plant Phenols of Rooibos Tea (*Aspalathus linearis*), α -Tocopherol, BHT, and BHA. Journal of Agricultural Food Chemistry. P 632-638.
- [55] **Kroyer G.T (2003)**. Red clover extract as antioxidant active and functional food ingredient innovative. Food Science and Emerging Technologies.
- [56] **Mansouri A , Embarek G, Kokkalou E. and Kefalas P. (2005)**. Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Food Chemistry p411– 420.
- [57] **Burits M, Bucar F (2000)**. « Phytotherapy Research » p323-328

Résumé

La modélisation par les plans d'expériences des procédés d'extraction par l'infusion du cumin et poivre noir nous a permis d'étudier les trois facteurs influant à savoir : la température, le temps et la concentration massique de l'épice dans l'eau sur les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux.

Une étude comparative des extraits de quelques épices (cannelle, poivre noir, coriandre, cumin, fenouil et anis vert) a été effectuée. Pour cela, l'activité antioxydante, les teneurs des PT, FT, quelques éléments métalliques ont été déterminés.

Les résultats obtenus sont comme suit :

- Influence des trois facteurs étudiés sur l'extraction des PT et FT.

Le paramètre (X1 : concentration massique) influe négativement sur l'extraction des PT cumin poudre et des FT cumin poudre et poivre noir. Elle n'a pas d'influence sur l'extraction des PT poivre noir et FT cumin graines. Elle se manifeste dans les interactions double et triple dans l'extraction des PT cumin.

Le paramètre (X2 : température) influe positivement sur les teneurs des PT et FT des extraits de cumin et poivre noir.

Le paramètre (X3 : temps) influe aussi positivement sur les teneurs des PT et FT des extraits de cumin graines. Ce facteur apparait uniquement dans les interactions double et triple lors de l'extraction des PT de poivre noir et cumin poudre. Il n'influe pas sur la TFT obtenue par l'infusion des extraits des poudres étudiées (cumin et poivre noir), cela signifie que le temps $t=5$ min a été suffisant pour extraire ces flavonoïdes des poudres utilisées.

- Présence des polyphénols et flavonoïdes dans tous les extraits à des teneurs différentes.
- Les extraits obtenus présentent une activité antioxydante importante.

La cannelle possède une capacité antioxydante plus importante. L'ordre décroissant de l'activité antioxydante est : cannelle > fenouil > cumin > anis vert > coriandre > poivre noir.

- Présence de quelques éléments métalliques dans les extraits.