

Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme

**MASTER**

*Thème*

**Optimisation de l'extraction des  
composés phénoliques à partir de la  
graine de tomate.**

Présenté par :

**BEDJIH Lydia & MOULLA Nassima.**

Soutenu le : **29/06/2019**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> *BOULEKBACHE. L.*

Professeur

Président

M<sup>me</sup> *GUEMGHAR HADDADI. H.*

MCA

Encadreur

M<sup>me</sup> *BRAHMI. F.*

MAA

Examineur

**Année universitaire : 2018 / 2019**

# *Remerciements*

*Nos remerciements vont tout d'abord à Dieu le tout puissant qui*

*Nous a donné la force et la patience tout au long de ce travail*

*Nous avons l'honneur et le plaisir d'exprimer notre profonde Gratitude à M<sup>me</sup>  
H.Guemghar-Haddadi notre promotrice pour ses orientations et ses conseils.*

*Nous tenons à remercier aussi :*

*M<sup>me</sup> L. Boulekbache, de nous avoir consacré de son temps en nous faisant  
L'honneur de présider le jury et d'évaluer notre travail ;*

*M<sup>me</sup> F. Brahmi, de nous avoir fait l'honneur d'examiner ce travail.*

*En bref nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à  
la réalisation de ce travail ; un grand merci à tous surtout à M<sup>r</sup> T. ouatmani pour  
son aide, encouragement et ses conseils.*



*Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail :*

*A mes chers parents*

*A mes chers frères et sœurs et en particulier Amrane et  
Wardia*

*A mes grands-mères et mon grand père*

*A mes amies: Zahra, Lynda, Mariem, Asma, hassiba,  
zehira et toutes la chambre A506.*

*A toute la famille Bedjih*

*A ma binôme : Nassima et à toute sa famille*

*A toute la promotion de QPSA 2019*

*Merci.*

*Dédicace*

*Je dédie cet ouvrage*

*A ma maman qui m'a soutenu et encouragé durant ces  
années d'études*

*Qu'elle trouve ici le témoignage de ma profonde  
reconnaissance.*

*A mon frère Nacim et sa femme Rabia*

*A ma chère sœur Miha et son mari sans oublier mon  
petite Simou.*

*A mes amies qui m'ont toujours encouragé, et à qui je  
souhaite plus de succès ; Chahra, Kouka, Assia et Dida.*

*Sans oublier Lynda, Mariem et ma binôme Lydia.*

*A tous ce que j'aime*

*Merci*

# Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction.....1

## Synthèse bibliographique

### Chapitre I : Généralités sur la tomate

1. Historique .....	Erreur ! Signet non défini.
2. Description botanique de la plante de tomate .....	Erreur ! Signet non défini.
3. Classification .....	Erreur ! Signet non défini.
4. Maturation .....	4
5. Composition de la tomate .....	Erreur ! Signet non défini.
6. Culture .....	Erreur ! Signet non défini.
7. Production .....	Erreur ! Signet non défini.
8. Utilisation .....	Erreur ! Signet non défini.
9. Sous-produits de transformation de la tomate .....	Erreur ! Signet non défini.
10. Principaux antioxydants de la tomate .....	7
10.1. Caroténoïdes.....	8
10.2. Composés phénoliques .....	Erreur ! Signet non défini.
10.2.1. Biosynthèse .....	10
10.2.2. Principales classes des composées phénoliques .....	10
Flavonoïdes .....	10
10.2.3. Rôle .....	11
10.2.4. Propriété antioxydante .....	11
10.2.5. Facteurs influençant la teneur en composées phénoliques... Erreur ! Signet non défini.	

## *Chapitre II : Méthode de surface de réponse*

1. Plan d'expérience .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
2. Méthode de surface de réponse (MSR) .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
3. Terminologie .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
4. Plans de surface de réponse .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
4.1. Notion d'espace expérimental .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
4.2. Notion de surface de réponse .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
4.3. Notion de modélisation mathématique .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
5. Plan composite centré (CCD) .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>

### *Partie expérimentale*

## *Chapitre I : Matériels et méthodes*

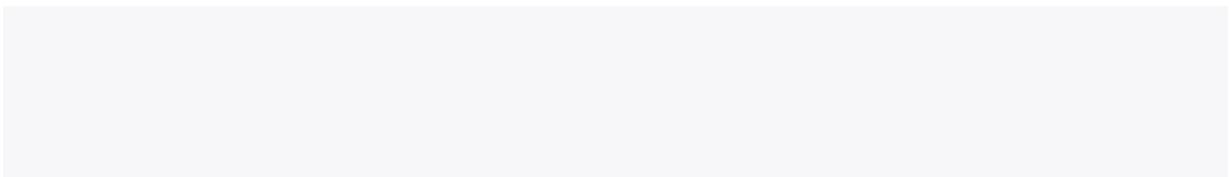
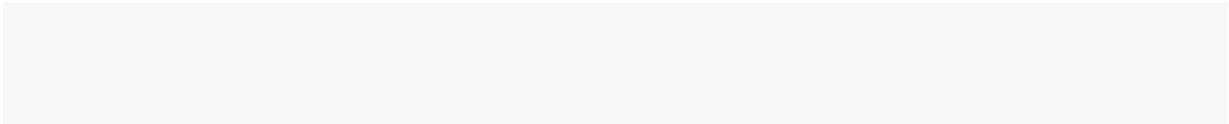
1. Réactifs .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
2. Matériel végétal .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
3. Etude préliminaire .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
3.1. Optimisation du temps d'extraction .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
3.2. Optimisation de la température d'extraction .....	<b>19</b>
3.3. Optimisation de la concentration de solvant d'extraction .....	<b>19</b>
3.4. Optimisation du ratio poudre/solvant .....	<b>19</b>
3.5. Optimisation du nombre de cycle d'extraction .....	<b>19</b>
4. Plan d'expérience .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
5. Dosage des antioxydants .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
5.1. Dosage des composés phénoliques totaux .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
5.2. Dosage des flavonoïdes .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
6. Détermination de l'activité antioxydante .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
6.1. Activité anti-radicalaire .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
6.2. Pouvoir réducteur .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
7. Analyse statistique .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>

## *Chapitre II : Résultats et discussion*

<b>1. Etude préliminaire</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>1.1. Temps d'extraction</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>1.2. Température d'extraction</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>1.3. Concentration de solvant</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>1.4. Ratio (solide/liquide)</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>1.5. Nombre de cycle d'extraction</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>2. Plan d'expérience</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>2.1. Analyse des variances</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
a) <b>Coefficient de détermination R<sup>2</sup></b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
b) <b>Ajustement des modèles</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
c) <b>Effets des facteurs</b> .....	<i>Erreur ! Signet non défini.</i>
<b>2.2. Analyse de surface de réponse</b> .....	<b>32</b>
<b>3. Conditions optimales d'extraction</b> .....	<b>34</b>
<b>4. Validation du modèle</b> .....	<b>34</b>
<b>5. Caractérisation phytochimique de l'extrait optimisé</b> .....	<b>35</b>
<b>Conclusion</b> .....	<b>37</b>

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**



## *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	Racines de la tomate	02
<b>02</b>	Tige de la tomate	02
<b>03</b>	Feuilles de la tomate	02
<b>04</b>	Fleurs de la tomate	03
<b>05</b>	Fruit de la tomate	03
<b>06</b>	Coupe transversal d'une tomate	03
<b>07</b>	Différentes phases de développement du fruit de tomate.	05
<b>08</b>	Différentes utilisations de la graine de tomate	08
<b>09</b>	Structure du noyau phénol	09
<b>10</b>	Squelette de base des flavonoïdes	10
<b>11</b>	Niveaux des facteurs définissent des points expérimentaux	14
<b>12</b>	Points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur	14
<b>13</b>	Réponses associées aux points d'un domaine d'étude forment la surface de réponse	15
<b>14</b>	Graine de tomate ;(B) : Broyage ;(C) : Tamisage ;(D) : Poudre de la graine de tomate	17
<b>15</b>	Influence du temps d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits de la graine de tomate	25
<b>16</b>	Influence de la température d'extraction sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques	25
<b>17</b>	Teneur en composés phénoliques de la graine de tomate obtenus par différentes concentrations en éthanol	26
<b>18</b>	Influence du ratio sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques	27
<b>19</b>	Influence du nombre de cycle d'extraction sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques	28
<b>20</b>	Plan de prédiction réelle	30
<b>21</b>	Surfaces de réponse obtenues par les effets de variables indépendantes sur les CPT	33

<b>22</b>	Représentation des conditions optimales d'extraction des CPT	34
<b>23</b>	Pouvoir réducteur de l'extrait de graines de tomate à différentes concentrations comparé au BHA et à l'acide ascorbique	36

## *Liste des tableaux*

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b><i>I</i></b>	Composition chimique de graines de tomates	04
<b><i>II</i></b>	classification de la plante de tomate	04
<b><i>III</i></b>	Production de tomates dans le monde entier (2012)	06
<b><i>IV</i></b>	Principaux antioxydants et activité antioxydante des différentes fractions de la tomate	08
<b><i>V</i></b>	Conditions d'extraction utilisées dans l'étude préliminaire	18
<b><i>VI</i></b>	Niveaux des paramètres choisis	20
<b><i>VII</i></b>	Matrice d'expérimentation	20
<b><i>VIII</i></b>	Résultats des essais du plan d'expérience	29
<b><i>IX</i></b>	Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle	31
<b><i>X</i></b>	ANOVA pour l'effet de temps, de température et de la concentration de solvant sur le CPT à l'aide d'un modèle de surface à réponse quadratique	32
<b><i>XI</i></b>	Conditions optimales d'extraction des CPT à partir de la graine de tomate exprimé en mg EAG /100g PS	34
<b><i>XII</i></b>	Teneurs en TPC, en flavonoïdes et activité anti-radicalaire des extraits de la graine de tomate	35

## *Liste des annexes*

<b>Annexe</b>	<b>Titre</b>
<b>I</b>	Différentes classes des composés phénoliques.
<b>II</b>	Quelques courbes d'étalonnages utilisées

La tomate (*Solanumlycopersicum* L.) constitue l'une des activités essentielles de la branche agroalimentaire par sa contribution dans la croissance du secteur agricole et l'absorption de la main d'œuvre (ONAGRI, 2015).

Plus récemment, une attention particulière a été accordée à la teneur en antioxydants des tomates car de nombreuses études épidémiologiques ont suggéré que la consommation régulière de fruits et légumes, y compris les tomates, peuvent jouer un rôle important dans la prévention du cancer et des maladies cardiovasculaires (Giovannucci, 1999 ; Heber, 2000 ; Rao et Agarwal., 2000).

La tomate est la seconde plus importante culture après la pomme de terre, dans le monde, avec 100 million de tonnes de fruits frais produits dans 144 pays (Kalogeropoulos et al., 2012). Une partie de cette production est consommée telle qu'elle est l'autre, plus grande, est transformée industriellement en purée, jus de tomate et sauces. Cette transformation génère de grandes quantités de sous-produits non utilisés, constitués essentiellement de pelures, graines et des feuilles qui restent au niveau du champ. Ces déchets sont riches en composés biologiquement actifs d'où l'importance de leur utilisation comme additifs alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques (Calvo et al., 2007).

Les sous-produits issus de l'industrie de la tomate ont une application potentielle dans l'industrie alimentaire en raison de leur contenu en composés bioactifs qui résulte de la présence d'antioxydants tel que les composés phénoliques, qui peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par une méthode d'extraction, mais cette procédure est influencée par plusieurs paramètres tels que la nature chimique de ses composés, la dimension des particules de l'échantillon, le temps d'extraction, la méthode d'extraction utilisée et chaque matériel végétal a ses propriétés spécifiques en terme d'extraction de ses composés (Telliet al., 2010).

De ce fait, la nécessité d'optimiser l'extraction s'impose et plus que nécessaire par l'utilisation d'une approche mathématique, dans le but de minimiser le nombre d'essais et de réduire les expériences.

L'objectif de la présente étude est l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques à partir des graines de tomates en appliquant la méthodologie de surface de réponse (MSR). Cette méthode est un ensemble de techniques statistiques et mathématiques de conception d'expériences, qui permet de construire un modèle expérimental et d'évaluer l'effet des facteurs (Temps, température et concentration en éthanol), séparément ou/et simultanément, sur l'extraction de composés phénoliques totaux de la graine de tomate ainsi que sur son activité antioxydante) (Shu et al., 2013).

*Synthèse*  
*Bibliographique*

*Chapitre I :*  
*Généralités sur la*  
*tomate*

## I. Historique :

La tomate est originaire d'un territoire allant du sud de la Colombie au nord du Chili et des îles Galápagos aux contreforts des Andes. La tomate fut pendant quinze siècles l'une des bases de l'alimentation des Indiens du Mexique et d'Amérique centrale, au même titre que le haricot, le piment ou le maïs. Lorsque les Conquistadores abordèrent les côtes mexicaines, ils découvrirent cette petite plante aux fruits ronds, de la taille de nos tomates cerise actuelles. C'est à Naples que les graines de tomates, rapportées par les Conquistadores, accostèrent en Europe. Au début du XVIème siècle par les Espagnols, elle fût en premier lieu consommée dans les pays méditerranéens, alors que dans les pays du nord de l'Europe elle resta considérée comme une plante ornementale jusqu'au XVIIème siècle (Dore et Varoquaux.,2006).

## II. Description botanique de la plante de tomate :

D'un point de vue botanique, la tomate est un fruit, mais elle est cultivée et utilisée comme un légume. Elle est constituée de trois parties : le péricarpe (peau et partie charnue), le gel (contenu dans les loges), et les graines. La peau consiste en quatre à cinq couches de cellules de type épidermique ou hypodermique sous une fine cuticule. Les figures ci-après permettent de détailler les différentes parties de la tomate.

**-Racine :** système racinaire vigoureux atteignant une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit des racines latérales et adventices denses.



**Figure 01 :** Les racines de la tomate

**-Tige :** Les habitudes de croissance varient entre érigée et prostrée. Elle atteint une hauteur de 2-4m. La tige est solide, grossière, poilue et glandulaire.



**Figure 02 :** La tige de la tomate

**-Feuille :** disposées en spirale, de 15 à 50 cm de long et de 10 à 30 cm de large. La feuille est ovale à oblongue, couverte de poils glandulaires. Le pétiole mesure 3-6cm.



**Figure 03 :** Les feuilles de la tomate

## [SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE]

### Généralités sur la tomate

**-Fleur :** Bisexuelle, régulière et de 1,5-2 cm de diamètre. Ils poussent en face ou entre les feuilles. Le tube de calice est court et velu, les sépales sont persistants. Elle est constituée aussi de 6 pétales, 6 étamines, les anthères et un ovaire supérieur.



**Figure 04 :** les fleurs de la tomate

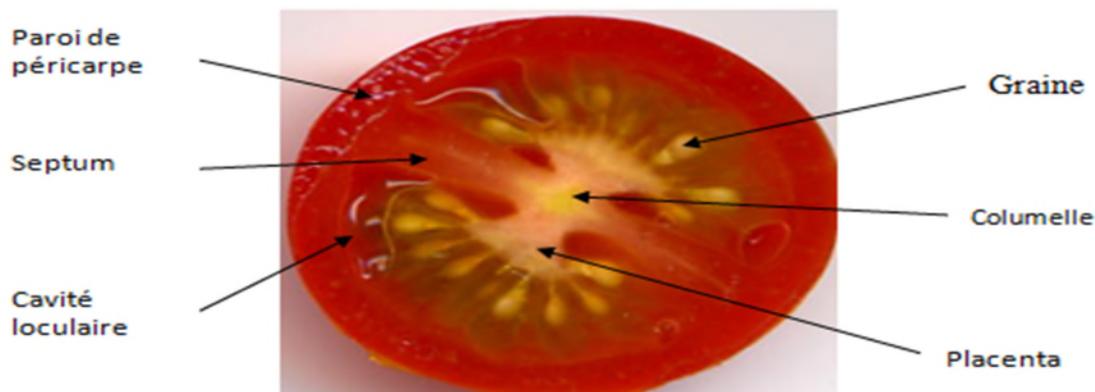
**-Fruit :** baie charnue, globuleuse à oblique, de 2 à 15 cm de diamètre. Le fruit immature est vert et velu. Les fruits mûrs vont du jaune à l'orange en passant par le rouge. Il est généralement rond, lisse ou sillonné (Naika et al., 2005).



**Figure 05 :** le fruit de la tomate.

**-Graines :** sont nombreuses, réparties dans des loges remplies de gel. En forme de rein ou de poire, poilues, beiges, de 3 à 5 mm de long et de 2 à 4 mm de large. Elles sont recouvertes d'un mucilage, L'embryon est enroulé dans l'albumen. Le poids de mille graines est en moyenne de 3 g (Naika et al., 2005) (figure 06).

La quantité de graines par rapport à la masse totale des résidus de tomates varie selon les variétés. Elle présente une particularité d'avoir un taux élevé en matière grasse avec une composition en acides gras proche de celle des graines de soja ou de tournesol. Les parois de graines de tomate à maturité sont très lignifiées. Leur composition est donnée dans le Tableau I.



**Figure 06 :** Coupe transversal d'une tomate

**Tableau I** : Composition chimique de graines de tomates

Constituants	(Abdel-Hamid, 1982)	(CANTARELLI et al. 1993)
Cendre	5.5	2.0 à 9.6
Sucres totaux	3.1	2.9 à 5.4
Protéines (Nx6.25)	26.2	22.9 à 36.8
MG (matière gras)	30.4	14.6 à 29.6
Extraits d'azote libre	14.7	--

### III. Classification :

La tomate (*Solanum lycopersicum* L.) appartient à l'ordre des Solanales et à la famille des Solanacées (Atherton et Rudich., 1986). C'est une plante herbacée, vivace à l'état naturel et annuelle en culture. La tomate appartient à la classification suivante (Tableau II).

**Tableau II** : Classification de la plante de tomate (Raffy,2006)

Règne	Plantae
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Ordre	Solanales
Famille	Solanaceae
Genre	Solanum
Espèce :	<i>Lycopersicum</i> L.

### IV. Maturation :

Au cours de sa maturation, la tomate change de couleur par la dégradation de la chlorophylle et la mise en place de la voie de biosynthèse des caroténoïdes. Elle va donc passer du vert au blanc, puis au jaune, pour enfin parvenir au rouge à maturité (pour la majorité des variétés) et le goût du fruit va se développer ainsi que sa structure, qui va devenir de plus en plus molle (Génard et al., 2010). Le cycle de maturation est illustré dans la figure 07.



**Figure 07** : Différentes phases de développement du fruit de tomate.

## V. Composition de la tomate :

Les tomates peuvent avoir des compositions variables en fonction du cultivar, du lieu de culture, de la façon dont elles sont cultivées (techniques agricoles et facteurs environnementaux), ainsi que de la conservation post-récolte. Par exemple une intensité lumineuse plus importante permet d'obtenir une augmentation des teneurs en caroténoïdes et en vitamine C (**Génard et al., 2010**).

Les constituants protéiques sont présents en faible concentration alors que la composition en lipides varie en fonction de la variété et du degré de maturité lors de la récolte (**Soltner, 1988**). La présence de plusieurs minéraux tel que : le Calcium, le Magnésium, le Fer, le Phosphore, le Potassium et le Sodium (**Cotte, 2000**).

Outre ces principaux constituants, le fruit de la tomate contient des vitamines, des enzymes, des substances pectiques, des pigments comme les chlorophylles et des caroténoïdes dont le carotène, le lycopène...etc (**Hart et Scout., 1995**).

## VI. Culture :

Elle est cultivée à l'heure actuelle dans de nombreux pays du monde, sous diverses conditions et climats. Cependant son développement optimal nécessite un climat tempéré chaud et des températures comprises entre 16 et 27°C. L'intensité lumineuse et la durée du jour ont aussi un rôle important dans le développement de la plante. Deux filières de la tomate sont à considérer : la tomate dite « de bouche » pour la consommation directe et la tomate industrielle pour la transformation.

-La première est cultivée en serre pour plus de 90% de la production commerciale, ou en plein champ (avec une production domestique non négligeable) et se ramasse manuellement, à un stade de maturité incomplet lorsque les fruits sont fermes et peu colorés.

-La deuxième est cultivée en plein champ. Les plantes doivent être résistantes aux conditions climatiques mais aussi aux pathogènes. La récolte se fait de façon mécanique à

maturité, ce qui implique l'utilisation de variété spécifique avec une croissance déterminée, et une maturation groupée des fruits. Ces tomates présentent une résistance physique plus importante que les tomates de bouche (**Degrou, 2013**).

## VII. Production :

Selon les statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), la production mondiale de tomates s'élevait en 2007 à 126,2 millions de tonnes et avec 162 millions de tonnes produites en 2012. (**Jiang et Hsieh., 2015**). Les détails de la production de tomates par pays sont présentés dans le tableau III.

**Tableau III** : Production de tomates dans le monde entier (**Messak, 2014**)

N°	Pays	Production (tonne)	N°	Pays	Production (tonne)
1	Chine	50125055	13	Ukraine	2274100
2	Inde	17500000	14	Nigeria	1560000
3	États-Unis	13206950	15	Portugal	1392700
4	Turquie	11350000	16	Maroc	1219071
5	Égypte Iran	8625219	17	Irak	1100000
6	Iran	6000000	18	Tunisie	1100000
7	Italie	5131977	19	Grèce	979600
8	Espagne	4007000	20	Indonésie	887556
9	Brésil	3873985	21	Cameroun	880000
10	Mexique	3433567	22	Pays-Bas	805000
11	Ouzbékistan	2650000	23	Algérie	796963
12	Russie F	2456100	24	Syrie	783874

## VIII. Utilisation :

La tomate est considérée comme une culture légumière commerciale et diététique importante. La tomate est largement utilisée fraîche, ainsi que dans l'industrie alimentaire pour la préparation des produits à base de tomate tels que la pulpe, le jus, la sauce, la pâte, le concentré et la poudre de tomate (**Goloubiev et Chebane, 1988**).

**-pulpe de tomate** : il s'agit de tomates écrasées avant ou après élimination des peaux et des graines.

- **jus de tomate** : c'est le jus provenant des tomates entières écrasées dans lesquelles la peau et les graines ont été éliminées et qui a été soumis à une fine désagrégation et qui est donné à la consommation sans dilution ou concentration.

- **pâtes de tomate** : le produit résultant de la concentration de la pulpe de tomates après l'élimination des peaux et les graines.

- **Sirop de tomate** : il correspond au sérum de tomate (jus de tomate qui a été filtré ou centrifugé) puis concentré.

- **Sauces de tomate** : ketchup (sauce tomate fabriquée à partir de purée de tomate) et sauce chili (identique au ketchup, sauf que les tomates sont utilisées entières et pelées).

### **IX. Sous-produits de transformation de la tomate :**

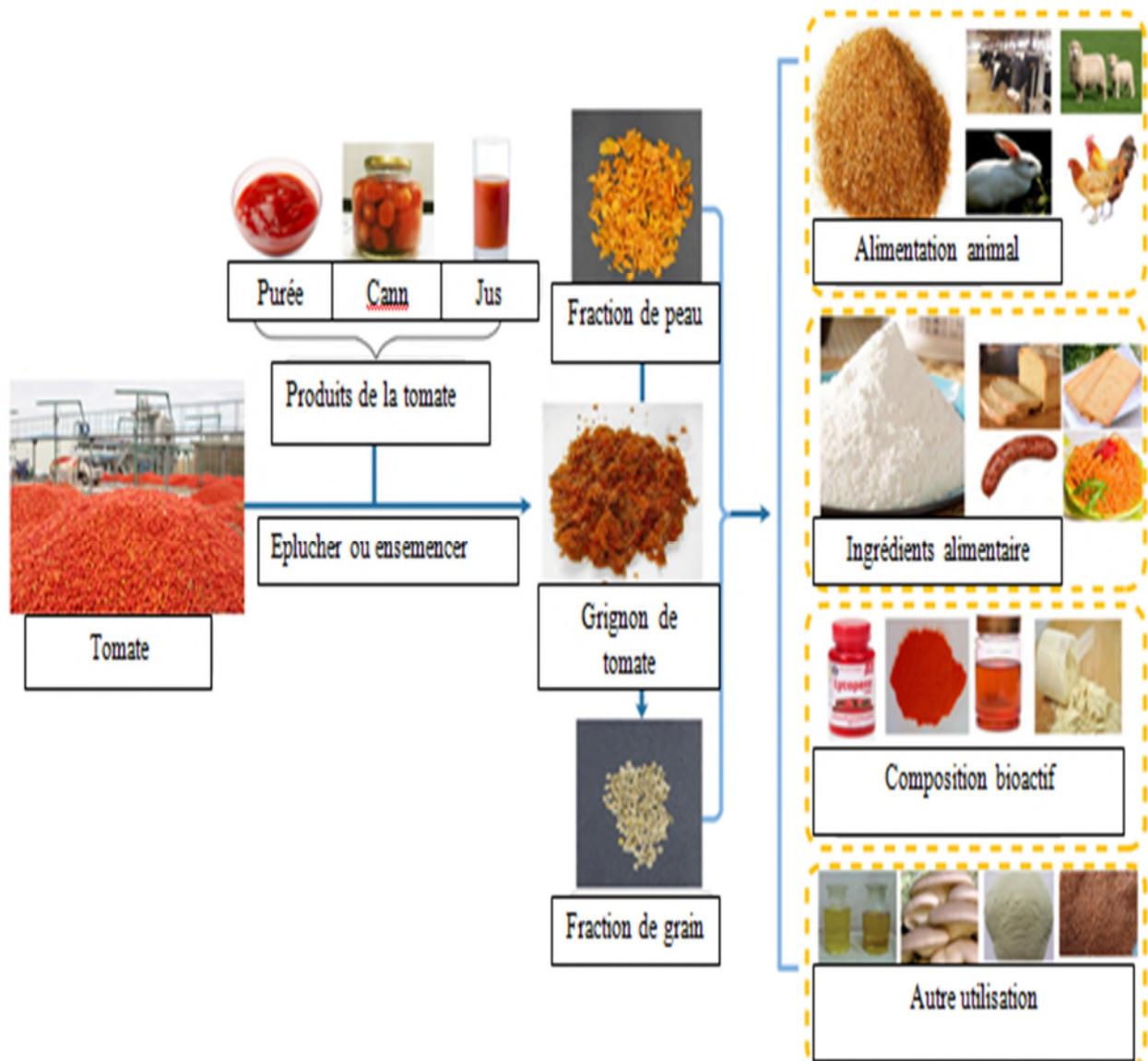
Les sous-produits de la tomate (peau et graines) représentent environ 4% du poids du fruit. Si ces déchets restent inutilisés, leur élimination constitue un véritable problème qui peut aggraver également la pollution de l'environnement. Les graines de tomates représentent un important sous-produit de la transformation des tomates. Elles constituent une excellente source de substances riches en nutriments comme les caroténoïdes, sucres, fibres et protéines, avec une composition en acides aminés proche de celle des graines de soja ou de tournesol et sont assez riches en huile soit 18 à 27 % de leur poids total (**Apria, 1969**). La graine de tomate peut être utilisée dans différentes applications comme le montre la figure 08.

### **X. Principaux antioxydants de la tomate :**

Les composants de la tomate comme le lycopène, les composés phénoliques, les flavonoïdes et les vitamines C et E sont principalement responsables de la capacité antioxydante des tomates crues et produits de tomates transformées (**Beutneret al, 2001; Leonardi et al., 2000 ; Stewart et al., 2000**) (Tableau IV).

**Tableau IV** :Principaux antioxydants et l’activité antioxydante des différentes fractions de la tomate(Toor et Savage., 2005).

Fraction	Composés phénoliques totaux (mg GAE/100g)		Flavonoïdes totaux (mg/100g)	Lycopène (mg/100g)	Acide ascorbique (mg/100g)	Activité antioxydante (EAG /100g)	
	Hydrophile	Lipophile				Hydrophile	Lipophile
<b>Pelure</b>	29,1	5,6	20,4	8,7	16,9	212,6	18,5
<b>Purée</b>	12,7	2,3	8,2	2,8	8,9	81,8	7,0
<b>Graines</b>	22,0	3,5	12,3	1,6	8,4	114,0	9,4



**Figure 08**:Les différentes utilisations de la graine de tomate.

### X.1. Caroténoïdes :

Les caroténoïdes sont des colorants naturels synthétisés par les plantes. Ils représentent les deuxièmes pigments naturels les plus abondants sur terre après le chlorophylle (Nisar et al., 2015). Ils sont responsables des couleurs lumineuses des fruits, des racines et des légumes (jaune, orange et rouge) (Murador et al., 2014).

Les différents types de caroténoïdes (alpha-carotène, bêta-carotène, lutéine, lycopène...etc.) ont des activités antioxydantes. Les caroténoïdes sont assurés par l'apport alimentaire car les animaux et les humains sont incapables de les synthétiser (Arimboor et al., 2014; Woodside et al., 2015).

### X.2. Composés phénoliques :

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou engagés avec des glucides (Macheix et al., 2006) (Figure 9).

Ils se retrouvent en quantités assez importantes dans les plantes supérieures (Neve et Pincemail, 2008) et sont présents partout : dans les racines, les tiges, les fleurs, les graines et les feuilles de tous les végétaux (Vautrin, 2005).

La majorité de ses composés sont solubles dans l'eau, habituellement, se produisent naturellement comme des glycosides localisés dans la vacuole de la cellule végétale. D'autres composés phénoliques sont liposolubles et sont présents dans le cytoplasme ou à la surface des plantes dans les cires et les exsudats de bourgeons (Hoffmann et al., 2003).

Le terme « composés phénoliques » comprend toutes les molécules aromatiques de la forme simple (acide aminé aromatique) à la forme complexe (tanins condensés) (Hrazdina, 1992).

Les composés phénoliques contribuent significativement à la couleur, au goût et à la saveur de plusieurs herbes, aliments, et boissons (Hoffmann et al., 2003) (Figure 05).

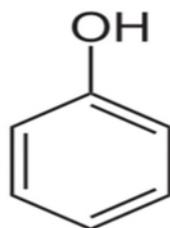


Figure 09 : Structure du noyau phénol (Sarni et Cheynier., 2006).

### X.2.1. Biosynthèse :

Les composés phénoliques des végétaux sont issus de trois grandes voies d'élaboration de cycle aromatiques ; la voie shikimate (également responsable de la synthèse des acides aminés Phe et Tyr) et la voie polyacétate qui consiste à la condensation des molécules d'acétylcoenzyme et la voie mixte (Dumas et Charriere., 1979).

### X.2.2. Principales classes des composés phénoliques :

Les composés phénoliques représentent un groupe diversifié de composés photochimiques (Li et Beta, 2013).

Il existe de nombreuses structures que l'on peut classer en différents groupes selon leur structure de base et les substituants qu'ils portent (Neve et Pincemail., 2008).

Les groupes majeurs sont les suivants : Acides phénoliques de type benzoïque ou cinnamique, flavonoïdes, stilbènes, lignines et subérines, tanins (Collin et al., 2011).

#### Flavonoïdes :

C'est le groupe le plus représentatif des composés phénoliques. Ces molécules ont des structures chimiques variées et des caractéristiques propres. Elles sont omniprésentes dans les fruits, les légumes, les graines et d'autres parties de la plante ; et dans les boissons telles que le thé et le vin rouge (Tsimogiannins et Oreopoulou., 2006).

La nature chimique des flavonoïdes dépend de leur classe structurale, de degré d'hydroxylation, de méthylation, de polymérisation, des substitutions et de glycosylation (Stalikas, 2010). Ces molécules ont tous la même structure chimique de base, ils possèdent un squelette carboné de quinze atomes de carbones constitué de deux cycles aromatiques (A) et (B) qui sont reliés entre eux par une chaîne en C3 en formant ainsi l'hétérocycle (C) (Erdman et al., 2007)(Figure 10).

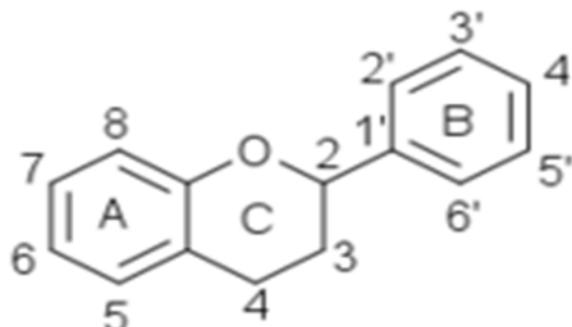


Figure 10 : Squelette de base des flavonoïdes (Crozier et al., 2009).

**X.2.3. Rôle :**

Les composés phénoliques exercent un rôle de défense contre les rayonnements ultra-violet et les agressions par des pathogènes (Neve et Pincemail., 2008).

Les bienfaits des composés phénoliques alimentaires suggèrent un rôle protecteur à l'encontre des cancers et des maladies chroniques. Leur nature chimique fait de ces composés des agents réducteurs et ce sont, par ailleurs, les antioxydants les plus abondants dans notre alimentation (Derbel et Ghedira., 2005).

**X.2.4. Propriété antioxydante :**

Les composés phénoliques ont attiré l'attention des chercheurs grâce à leur activité antioxydante puissante qui est basée principalement sur les propriétés redox de leur groupement hydroxyle et la relation structurale entre les différentes parties de leur structure chimique (Oboh et Rocha, 2007).

La propriété redox permet aux composés phénoliques de réagir comme agents de réduction, donneurs d'hydrogène, piègeurs d'oxygène singulier et chélateurs des ions métalliques (Vega-Gálvez et al., 2009).

**X.2.5. Facteurs influençant la teneur en composés phénoliques :**

Les fruits et les légumes sont les principales sources en composés phénoliques, il y a plusieurs facteurs qui peuvent affecter leur contenu final. Parmi ces facteurs, figurent les facteurs génétiques, d'environnement, le stade de maturation lors de la récolte, les procédés technologiques et le stockage (Herrero et al., 2012).

***Chapitre II :***  
***La méthode de***  
***surface de réponse***

L'optimisation fait référence à l'amélioration des performances d'un système, d'un procédé ou d'un produit afin d'obtenir le maximum de son profit. Le terme optimisation a été couramment utilisé en analyse chimique comme moyen de découvrir les conditions dans lesquelles en appliquant une procédure qui produit la meilleure réponse possible (**Araujo et al., 1996**).

Traditionnellement, l'optimisation en chimie analytique a été réalisée en surveillant l'influence d'un facteur à la fois sur une réponse expérimentale. Alors qu'un seul paramètre est modifié, d'autres sont maintenus à un niveau constant. Cette technique d'optimisation s'appelle une variable à la fois (**Santos et al., 2010**).

## **I. Plan d'expérience :**

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais d'optimisation qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à des nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir de moment où le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt « Y » (réponse) et des variables « Xi » est rechercher (facteurs) (**Goupy,2006**).

### **I.1. Principe :**

Il consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou de plusieurs facteurs, qui sont les variables discrètes ou continues à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expérience à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés (**Goupy et Creighton, 2006**).

## **II. Méthodologie de surface de réponse (MSR) :**

La méthodologie de surface de réponse (MSR), initialement décrite par Box et Wilson (1951), est une collection de techniques statistiques et mathématiques utiles au développement, à l'amélioration et à l'optimisation des processus, laquelle une réponse d'intérêt est influencée par plusieurs facteurs (variables indépendantes).

MSR ne définit pas uniquement les effets des variables indépendantes, mais génère également un calcul mathématique. Actuellement, elle est utilisée dans l'extraction de composés phénoliques de diverses sources (**Liu et al., 2010; Liyanapathirana et Shahidi., 2005; Radojkovica et al., 2012**).

L'objectif est de simultanément optimiser les niveaux de ces variables pour atteindre le meilleur système performance et permet d'évaluer les effets de plusieurs variables de processus et leurs interactions sur les variables de réponse.

### III. Terminologie :

Afin de mieux comprendre les plans d'expériences il serait pertinent d'introduire les termes clés :

- **Domaine d'étude** : domaine expérimental qui doit être étudié. Il est défini par les limites minimale et maximale des variables expérimentaux étudiés (**Bezerra et al.,2008**).
- **Plan expérimental** : est un ensemble spécifique d'expériences défini par une matrice composée de différentes combinaisons de niveaux de variables étudiées (**Bezerra et al.,2008**).
- **Facteurs ou variables indépendantes** : sont des variables expérimentales peuvent être changés indépendamment les uns des autres. Typiquement les variables indépendants comprennent : la température, la concentration des réactifs débits...etc. (**Bezerra et al.,2008**).
- **Réponses ou variables dépendantes** : sont les valeurs mesurées du résultat d'expérience. Les réponses typiques sont l'analyse signal tel que l'absorbance, intensité d'émission nette et signal électrique (**Bezerra et al.,2008**).
- **Niveaux de facteurs codés** : dans les conceptions de dépistage, les facteurs sont généralement examinés à deux niveaux  $[-1, +1]$  (**Candiotti et al., 2014**).
- **Résidus** : c'est la différence entre le résultat calculé et le résultat expérimental pour un ensemble des conditions déterminé (**Bezerra et al.,2008**).

### IV. Plans de surface de réponse :

Les plans d'expériences permis d'obtenir le maximum des renseignements avec le minimum d'expériences. Pour cela, il faut suivre des règles mathématiques et adopter une démarche rigoureuse (**Bezerra et al.,2008**).

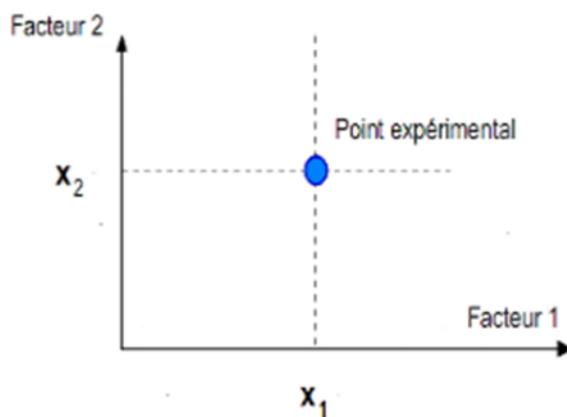
La compréhension de la méthode des plans d'expériences s'appuie sur trois notions essentielles : espace expérimental, surface de réponse et modélisation mathématique de grandeurs étudiées.

**IV.1. Notion d'espace expérimental :**

Un expérimentateur qui lance une étude s'intéresse à la mesure d'une grandeur Y qui s'appelle une réponse. La valeur de cette grandeur dépend de plusieurs variables (facteurs) donc la réponse dépend aussi de plusieurs facteurs. **(Goupy, 2006).**

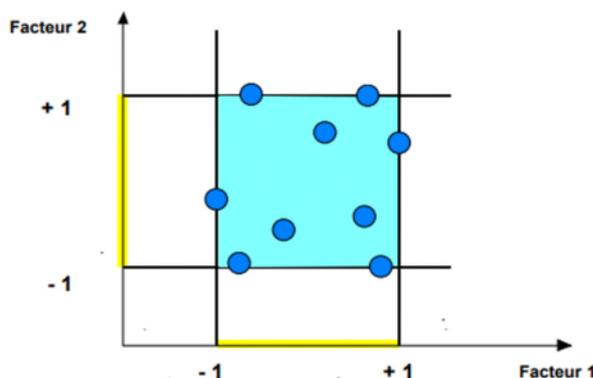
Le premier facteur peut être représenté par un axe gradué et orienté (voir figure 11). La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau. Lorsque l'influence d'un facteur est étudié ; ses variations sont limitées entre le niveau bas (-1) et le niveau haut (+1) et l'ensemble des valeurs qui se situent entre ces deux niveaux s'appellent le domaine de variation du facteur **(Goupy, 2006).**

S'il y a un second facteur, il est représenté lui aussi par un axe gradué et orienté. Est défini comme le premier facteur ; son niveau haut, son niveau bas et son domaine de variation. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier et l'espace bidimensionnel situé entre ces deux axes est appelé l'espace expérimental (figure 12) **(Goupy, 2006).**



La valeur  $X_1$  du facteur 1 et la valeur  $X_2$  du facteur 2 peuvent être considérés comme les coordonnées d'un point de l'espace expérimental. Un plan d'expérience est représenté par un ensemble des points expérimentaux (Figure 07).

**Figure 11 :** Les niveaux des facteurs définissent des points expérimentaux.



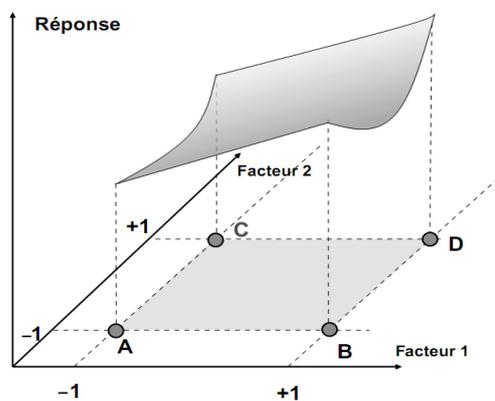
Le domaine d'étude est une zone d'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude (Figure 08).

**Figure 12 :** Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur.

## IV.2. Notion de surface de réponse :

Un des grands avantages de la méthode des plans d'expériences est la présentation des résultats sous forme du graphique «la méthodologie de surface de réponse (MSR)». Cette technique vise à déterminer d'une façon quantitative les variations de la fonction réponse vis-à-vis des facteurs d'influence significative.

Les niveaux  $X_i$  représentent les coordonnées d'un point expérimental et  $Y$  est la valeur de la réponse en ce point. 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 (Benoist et al., 1995, Goupy, 2006)(Figure 13).



- $[-1,+1]$  représente le domaine du facteur ;
  - Les points A, B, C, D représente les points expérimentaux ;
  - L'espace limite par la forme ABCD représente le domaine d'étude ;
- La surface grise représente la surface de réponse.

**Figure 13 :** Les réponses associées aux points du domaine d'étude forment la surface de réponse.

## IV.3. Notion de modélisation mathématique :

Une fonction mathématique qui relie la réponse aux facteurs est choisie. Les dérivées sont supposées constantes et le développement prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \dots + \sum a_{ii} x_i^2 + a_{ij\dots z} x_i x_j \dots x_z \quad (1)$$

**Y :** La réponse ou la grandeur d'intérêt.

**$X_i$  :** Représente le niveau attribué au facteur  $i$ .

**$a_0, a_i, a_{ij}, a_{ii}$  :** Sont les coefficients du modèle mathématique adopté a priori. Ils ne sont pas connus et doivent être calculés à partir des résultats des expériences.

L'intérêt de modéliser la réponse par un polynôme est de pouvoir calculer ensuite toutes les réponses du domaine d'étude sans être obligé de faire les expériences. Ce modèle est appelé "modèle postulé" ou "modèle à priori" (**Goupy, 2006**).

Le modèle à priori peut avoir deux écarts, manque d'ajustement (Lack of fit en anglais) et l'erreur expérimentale, qui sont souvent réunis dans un seul écart noté. Le modèle utilisé par l'expérimentateur s'écrit alors :

$$y = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \dots + \sum a_{ii} x_i^2 + a_{i...z} x_i x_j \dots x_z + e \quad (2)$$

### **V. Plan composite centré (CCD) :**

Le plan composite centré CCD est une conception expérimentale utilisée pour attribuer les variables d'opération dans une plage d'évaluation. Il est utilisé pour construire un système expérimental de second ordre (**Myers, 1976**).

Le CCD est composé d'un plan factoriel, d'un ensemble de points centraux et des points axiaux équidistants du point central. La composante factorielle de CCD est de la classe  $2^k$  factorielle où  $k$  représente le nombre de facteurs ou de variables pertinents. Chacune des variables est prise à deux niveaux significatifs que chaque variable a une valeur numérique basse et haute ; Codé par une valeur numérique de -1 et +1 est attribuée pour représenter les valeurs basses et hautes de la variable. La représentation géométrique d'un factoriel est un cube dans lequel chaque coin représente une interaction des facteurs. Dans cette perspective, 8 interactions doivent être évaluées lorsque les 3 variables de traitement sont sélectionnées pour déterminer leur importance dans la réponse finale (**Myers, 1976**).

# *Partie expérimentale*

***Chapitre I :***  
***Matériel et méthodes***

**I. Réactifs :**

Les composés 1,1-diphényl-2-picrylhydrazyle (DPPH), carbonate de sodium, chlorure d'aluminium  $Al^3Cl$ , réactif acide et Folin – Ciocalteu phénol ont été achetés chez Sigma – Aldrich (Allemagne), France, Youville montereal, Quebec Canada. Tous les solvants utilisés étaient de qualité analytique et achetés chez Prolabo (CE).

**II. Matériel végétal :**

La graine de tomate provient d'une variété industrielle ; c'est le sous-produit de la tomate conserve. L'échantillon a été broyé avec un broyeur électrique et la poudre a été tamisée à travers un tamis d'une porosité de 500  $\mu m$ , ensuite elle a été conservée dans un réfrigérateur en attendant l'étape d'extraction (figure 14).



**Figure 14 :** (A) : Graine de tomate ;(B) : Broyage ;(C) : Tamisage ;(D) : Poudre de la graine de tomate.

**III. Etude préliminaire :**

L'extraction est l'une des étapes cruciales pour la recherche et l'étude des métabolites secondaires des plantes. En général, l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques est influencée par de multiples paramètres.

Avant de procéder à l'optimisation, une étude préliminaire a été réalisée afin de pouvoir sélectionner les paramètres à optimiser et déterminer les niveaux des facteurs. Dans cette étude, l'effet de plusieurs paramètres d'extraction influents ; le temps, la température, la concentration de solvant, le ratio (le rapport solide/ liquide) et le nombre de cycle d'extraction ont été systématiquement étudiés séparément pour obtenir un rendement maximal en CPT.

L'optimisation des paramètres d'extraction des composés phénoliques est une méthode dans laquelle les paramètres initiaux sont fixés et modifiés l'un après l'autre suivant une succession bien déterminée pour qu'on puisse à la fin d'avoir des paramètres optimaux et qui donne les meilleurs rendements d'extraction.

Les conditions d'extraction présentées par le tableau V ont été optimisées dans la partie préliminaire de ce travail.

**Tableau V:** Conditions d'extraction utilisées dans l'étude préliminaire

<b>Temps d'extraction</b>	<b>Température d'extraction (°C)</b>	<b>Concentration de solvant (%)</b>	<b>Ratio (mg/ml)</b>	<b>Nombre d'extraction</b>
10 min	18(ambiante)	0	20	1
30 min	20	20	30	2
1 h	40	40	40	3
2 h	60	60	50	4
3 h	90	80	60	
6 h		100		
24 h				

**III.1. Optimisation du temps d'extraction :**

Une quantité de 1g de poudre de la gaine de tomate a été mélangé avec 30ml d'éthanol à 40% dans des tubes ; qui sont placées dans un bain-Marie fixé à une température de 40 °C durant 10 min, 30 min, 1h, 2h, 3h, 6h et 24h.

Après chaque extraction le mélange est filtré à l'aide de papier filtre et centrifugé, les surnageants obtenus ont été recouvert et gardés jusqu'au moment de l'analyse.

**III.2. Optimisation de la température d'extraction :**

Une extraction est effectuée sur 1g de poudre de la graine avec un volume de 30 ml d'éthanol à 40% dans des températures différentes (18°C, 20°C, 40°C, 60°C et 90°C). Après une heure (60min), les mélanges sont centrifugés à 3000 tours pendant 15 min, les surnageants sont récupérés et filtrés.

**III.3. Optimisation de la concentration de solvant d'extraction :**

Une extraction est effectuée avec 30 ml de solvant pour 1 g de poudre de la graine à différentes concentrations d'éthanol (0%, 20%, 40%, 60%, 80% et 100%) à une température optimisée (60°C) et un temps fixé à 1h. Les mélanges sont centrifugés à 3000 tours pendant 15 min, et ont subis une filtration.

**III.4. Optimisation du ratio poudre/solvant:**

Différents ratio poudre/solvant (1/20, 1/30, 1/40, 1/50 et 1/60) (g/ml) ont été testés. La poudre de la graine a été mélangé avec le solvant (temps d'extraction 1h, une température de 60°C et une concentration d'éthanol de 40%). Ces mélanges subissent une centrifugation et une filtration.

**III.5. Optimisation du nombre de cycle d'extraction :**

Une quantité de 1g de poudre de la graine est mélangé avec un volume de 30 ml d'éthanol pour subir plusieurs cycles d'extractions (1 fois, 2 fois, 3 fois et 4 fois) à des conditions connu comme 1h de temps, 60°C de température, une concentration de 40% d'éthanol et un ratio de 1/30 (g/ml). Les mélanges sont centrifugés et filtrés.

**IV. Plan d'expérience :**

L'analyse des plans d'expériences passent par l'utilisation de variables centrées réduites pour désigner les différents niveaux des facteurs. En effet, les variables dans le plan d'expérience sont centrées sur 0, et elles sont réduites à l'intervalle [-1,+1]. L'utilisation des variables centrées réduites permet une meilleure comparaison, car les différences de domaine entre les facteurs sont éliminés (**Duret,2013**).

Le tableau VI montre les niveaux des paramètres choisis à partir de l'étude préliminaire pour établir le plan d'expérience.

**Tableau VI:** Niveaux des paramètres choisis

	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>+1</b>
<b>Temps (min)</b>	30	60	90
<b>Température (°C)</b>	20	40	60
<b>Concentration (%)</b>	0	40	80

Le tableau VII montre le plan d'expérience obtenu par le logiciel en utilisant les niveaux des variables indépendantes du tableau VI et le plan CCD.

**Tableau VII :** Matrice d'expérimentation

	<b>Temps (min)</b>	<b>Température (°C)</b>	<b>Concentration (%)</b>
<b>1</b>	90	20	0
<b>2</b>	60	40	80
<b>3</b>	30	60	0
<b>4</b>	60	40	40
<b>5</b>	90	20	80
<b>6</b>	60	40	40
<b>7</b>	60	20	40
<b>8</b>	60	40	40
<b>9</b>	30	20	0
<b>10</b>	60	40	40
<b>11</b>	90	60	80
<b>12</b>	60	40	40
<b>13</b>	60	40	40
<b>14</b>	30	60	80
<b>15</b>	90	40	40
<b>16</b>	60	60	40
<b>17</b>	90	60	0
<b>18</b>	60	40	0
<b>19</b>	30	20	80
<b>20</b>	30	40	40

## **V. Dosage des antioxydants :**

### **V.1. Dosage des composés phénoliques totaux :**

Le Folin-Ciocalteu qui est un mélange de couleur jaune constitué de deux acides : phosphotungstique ( $H_3PW_{12}O_{40}$ ) et phosphomolybdique ( $H_3PMO_{12}O_{40}$ ). En milieu basique (carbonate de sodium 6%) il est réduit, lors de l'oxydation des composés phénoliques, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène.

#### **V.1.1. Mode opératoire :**

Un volume de 100  $\mu$ l d'extrait est additionné à un volume de 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué 20fois). Après 5min à température ambiante, un volume de 1ml de carbonate de sodium ( $Na_2CO_3$ ) 6% a été ajouté. Après agitation et incubation pendant 1h à température ambiante dans l'obscurité, les absorbances ont été mesurées à 750 nm.

La concentration en composés phénoliques totaux de l'extrait, exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de la poudre sèche (mg EAG/100g PS), est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique (Marian et Fredon.,2004) (Annexe I).

### **V.2. Dosage des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes constituent le groupe le plus hétérogène des composés phénoliques repartis dans différentes classes ; dont certains sont solubles dans les solvants polaires tandis que d'autres sont solubles dans les solvants apolaires (Macheix et al.,2005).

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre en position cinq susceptible de donner en présence du chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) un complexe jaunâtre, par chélation de l'ion aluminium ( $Al^{3+}$ ) dont sa concentration est proportionnelle à la quantité des flavonoïdes présents dans l'extrait (Djeridane et al.,2006).(annexe I)

#### **V.2.1. Mode opératoire :**

Un volume de 1ml de chaque extrait est mélangé avec un volume de 1ml d'une solution de chlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ )2% diluée dans le méthanol, après 10min d'incubation à température ambiante et à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 415 nm (Dahmoune et al.,2014).

La concentration en flavonoïdes est calculée en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec la quercitrine, les résultats sont exprimés en mg équivalent quercitrine par 100g de poudre sèche (mg EQ/100g de PS).

## VI. Détermination de l'activité antioxydante :

### VI.1. Activité anti-radicalaire :

Le 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) ;(DPPH) est un radical libre stable dans le méthanol. Dans ce test les antioxydants réduisent le (DPPH) ayant une couleur violette en un composés jaune, l'intensité de la décoloration est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons et d'électrons.

#### VI.1.1. Mode opératoire :

L'activité anti-radicalaire est mesurée selon la méthode rapportée par **He et al., 2011**; un volume de 1ml de la solution DPPH (60 mM) est additionné à 1ml d'extrait puis incubé à l'obscurité pendant 30 minutes. Les absorbances sont mesurées à 517 nm

Un contrôle sans extrait a été préparé dans les mêmes conditions. L'activité anti-radicalaire est exprimée en pourcentage d'inhibition du radical DPPH par rapport à un contrôle :

$$PI\% = \frac{Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{extrait}}}{Abs_{\text{contrôle}}} \times 100$$

**PI%** : Pourcentage d'inhibition

**Abs<sub>contrôle</sub>** : Absorbance de contrôle

**Abs<sub>extrait</sub>** : Absorbance d'extrait

Les résultats sont exprimés en IC50  $\mu\text{g/ml}$  (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50% la concentration initiale en DPPH).

### VI.2. Pouvoir réducteur :

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans l'extrait à réduire le fer ferrique du complexe ferricyanure  $[\text{FeCl}_3/\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$  en fer ferreux  $\text{Fe}^{2+}$ . La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits .

#### VI.2.1. Mode opératoire :

Un volume de 0.5ml d'extrait est additionné avec 1.25ml de tampon phosphate (0.2M, pH 6.6) et de 1.25 ml ferricyanure de potassium (1%). Le mélange est incubé à 50°C pendant 20 min.

Un volume de 1.25 ml de trichloracétique TCA (10%) est ajouté au mélange. Dans un tube à essai, sont mélangés 1 ml du mélange, 1 ml d'eau distillée et 0.2 ml de chlorure ferrique FeCl<sub>3</sub>. L'absorbance est mesuré à 700 nm (**Bourgou et al., 2008**).

## **VII. Analyse statistique :**

Une analyse descriptive des résultats est réalisée à l'aide du logiciel Microsoft Office Excel 2007, afin de déterminer les moyennes et l'écart types. Les résultats sont analysés par STATISTICA 5.5, version 8 , basé sur l'analyse de la variance (ANOVA).

D'autres parts, les résultats expérimentaux du plan d'expérience sont analysés par le logiciel STATEASE. Le degré de signification des données est pris à la probabilité  $p < 0,05$ .

***Chapitre II :***  
***Résultats et discussion***

## **I. Etude préliminaire :**

Avant de procéder à l'optimisation d'extraction des CPT de la graine de tomate par la méthodologie de surface de réponse et dans le but de déterminer les gammes expérimentales appropriées à prendre en compte lors du processus d'optimisation ; une étude préliminaire a été menée afin de déterminer les valeurs optimales des différents paramètres suivants dans le but de les fixer lors de la variation des autres paramètres. L'éthanol a été choisi comme solvant d'extraction et sa concentration optimale a été de 40%, la température à 40°C, le ratio à 1/30 (g/ml), le nombre d'extraction à 3 répétitions sachant que le premier facteur à avoir été optimisé dans cette étude est le temps. En variant le temps de 10 min à 24 h afin d'obtenir le rendement en CPT maximal.

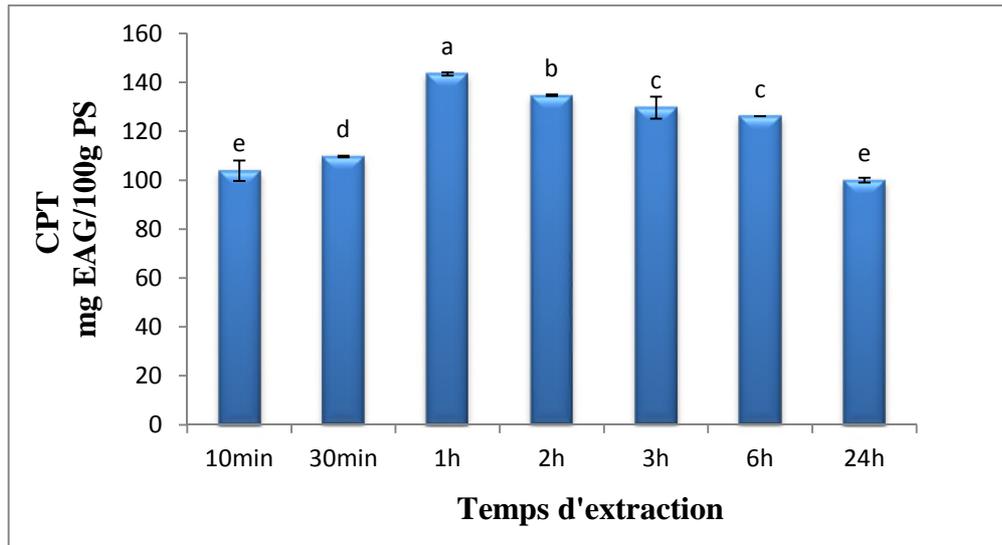
### **I.1. Temps d'extraction :**

Les résultats du dosage des composés phénoliques dans les extraits analysés sont présentés dans la figure 15. Les valeurs de la concentration correspondant sont exprimées en mg d'équivalent d'acide gallique par 100 gramme de poudre de la graine de tomate (mg EAG/100 g PS).

Les temps d'extraction marquent une augmentation progressive des teneurs des CPT jusqu'à une valeur maximal de 143.44 mg EAG /100g PS à 1h où le rendement atteint aussi son maximum, puis une diminution lente jusqu'à une valeur minimal de 100.04mg EAG /100g PS à 24h.

Le temps d'extraction est un paramètre principale dans la procédure d'extraction des composés phénoliques, il peut varier de quelques minutes à 24 heures et plus (**Lapornik et al., 2005 ; Lee et al., 2005**). Selon **Nayak et Rastogi (2010)**, le temps d'extraction est un facteur clé pour maximiser l'extraction des composés phénoliques et minimiser les couts du processus.

Le temps de contact entre la phase solide et la phase liquide est l'un des très importants paramètres à maîtriser car il est étroitement lié à la cinétique de l'extraction. La connaissance de cette dernière permettra d'arrêter l'extraction lorsque le rendement souhaité est atteint (**Galvan D'Alessandro, 2013**).

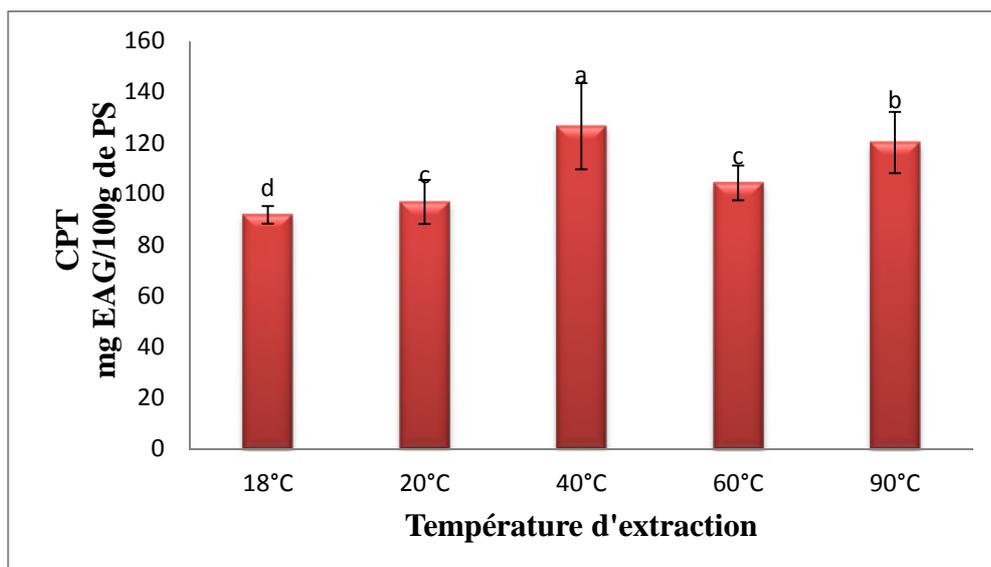


**Figure 15 :** Influence du temps d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits de la graine de tomate. La même lettre indique l'absence de différence significative pour  $p < 0,05$  (test LSD). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

## I.2. Température d'extraction :

Les résultats du dosage des CPT des extraits obtenus à différentes températures sont présentés dans la figure 16. Les résultats des teneurs en CPT des extraits de la graine de tomate varient de 91,74 mg EAG/100 g PS à 126,49 mg EAG/100 g PS.

Une augmentation significative de CPT a été observé au cours du la plage de température d'extraction (18–90°C), et la teneur en composés phénoliques atteint un maximum d'environ 126,49 mg d'EGA / g de la graine de tomate à 40°C.



**Figure 16 :** Influence de la température d'extraction sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques.. La même lettre indique l'absence de différence significative pour  $p < 0,05$  (test LSD). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

### I.3. Concentration de solvant :

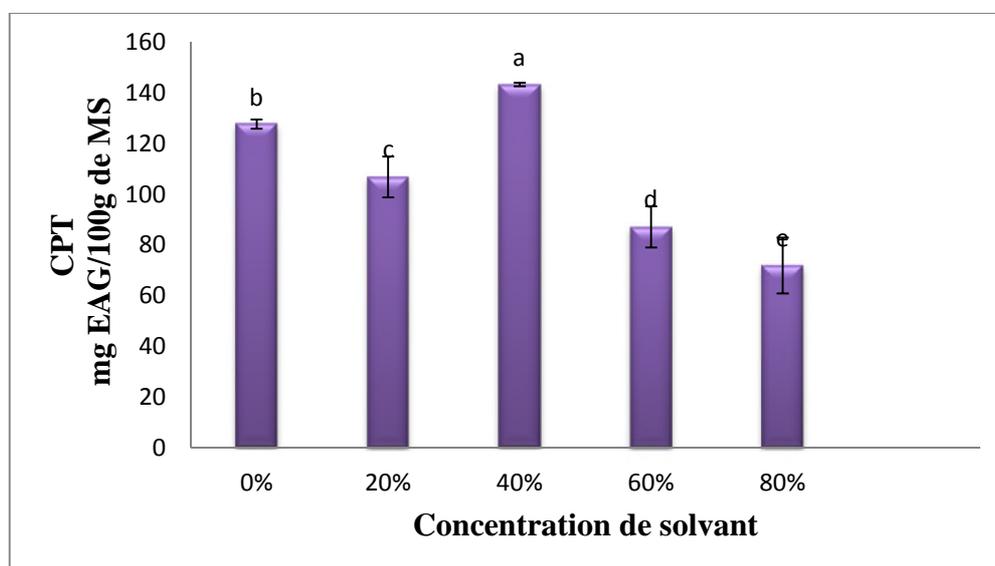
La Figure 17 représente les résultats de dosage des composés phénoliques des extraits de différentes concentrations du solvant (éthanol 0%(eau), 20%, 40%, 60%, 80%).

Les CPT augmentent avec l'augmentation de la concentration en éthanol jusqu'à 40% (143,36mg EAG/100g de PS), puis diminuaient jusqu'à atteindre un minimum de 72,03 mg EAG/100g PS à 80%.

La concentration la plus élevée d'éthanol (80%) n'assure pas une bonne récupération des composés phénoliques. En considérant l'éthanol 40% qui donne un bon rendement dans cette analyse.

L'efficacité de l'extraction est directement liée à la compatibilité entre les CPT et le solvant utilisé, ainsi si la polarité des composés est adaptée avec celle du solvant, ils seront facilement extraits (Proestos et al., 2008). Le travail de Hijazi et al. (2013) a montré que les solvants les plus performants en rendement d'extraction des composés phénoliques sont l'eau distillée comme solvant polaire et l'éthanol.

L'éthanol possède l'avantage d'être éliminé facilement sous vide. Il donne en plus un meilleur rendement d'extraction dépassant celui de l'eau (Owen et Johns., 1999 ; Vercauteren et al., 1996).



**Figure 17 :** Teneur en composés phénoliques de la graine de tomate obtenus par différentes concentrations en éthanol. La même lettre indique l'absence de différence significative pour  $p < 0,05$  (test LSD). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais = 3).

#### I.4. Ratio (solide/liquide) :

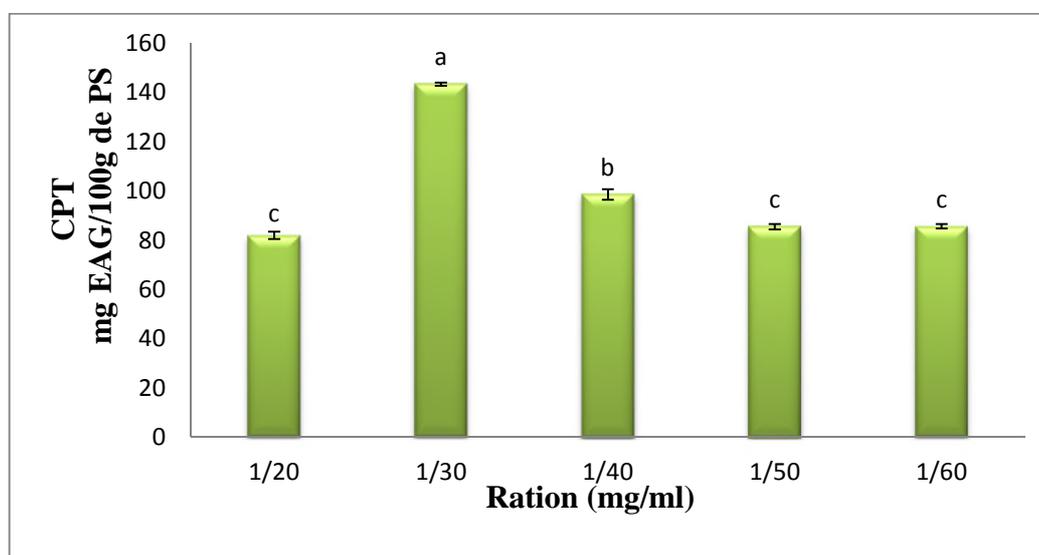
Les résultats de dosage des composés phénoliques des extraits de différent ratio(solide/liquide) sont indiqués dans la figure 18.

Dans la présente étude, le volume du solvant a été augmenté en gardant le poids solide constant (1 g), le solvant doit être suffisant pour s'assurer que l'ensemble de l'échantillon est immergé (SparrEskilsson *et al.*,2000)

Les résultats obtenus pour les extraits, montrent que l'extrait au rapport 1/30 (mg/ml) enregistre la teneur la plus élevée de 143,365mg EAG/100 g PS et marque une large différence significative avec les autres rapports tels que (1/20, 1/40, 1/50 et 1/60) qui représente une faible extraction des CPT.

En effet, le rapport solide/liquide de 1/30 (mg/ml) permet d'extraire le taux le plus élevé. Au-delà de ce rapport, les taux diminuent (Leandro *et al.*, 2012 ; Silva *et al.*,2007).

Le ratio (solide/liquide) influence d'une manière significative sur l'extraction des composés phénoliques Conventionnellement, un meilleur volume de solvant augmente la récupération des composés phénoliques, cela est relié au potentiel d'échange entre le solide et le liquide.



**Figure 18 :** Influence du ratio sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques.

La même lettre indique l'absence de différence significative pour  $p < 0,05$  (test LSD). Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

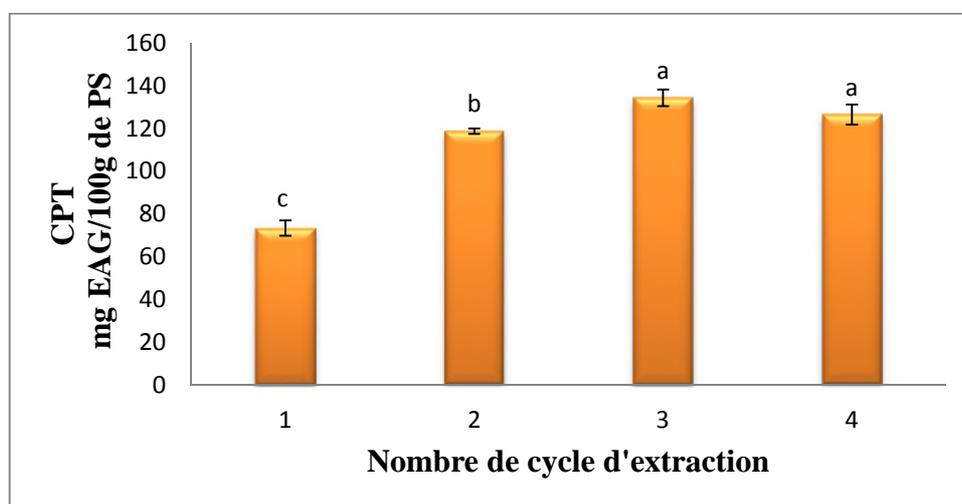
### I.5. Nombre de cycle d'extraction :

Les résultats de l'effet du nombre d'extraction sur la teneur en composés phénoliques sont illustrés dans la figure 19.

Le faible rendement est obtenu après le premier et le deuxième cycle d'extraction. Alors que pour les extraits restants ; le rendement le plus élevé était observé après le troisième cycle qu'est de 134,368mg EAG/100 g PS).

Dans la présente étude, le troisième cycle a été choisi comme meilleur cycle pour l'extraction des composés phénoliques.

**Duong et al. (2015)** ont confirmé que l'effet de nombre de cycle d'extraction (1,2, 3 et 4 cycle) sur la teneur en CPT révèle que le troisième cycle donne la meilleure teneur.



**Figure 19** : Influence du nombre de cycle d'extraction sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques. La même lettre indique l'absence de différence significative pour  $p < 0,05$  (test LSD).

Les barres verticales indiquent les écarts types (nombre d'essais =3).

**II. Plan d'expérience :**

Les valeurs expérimentales du plan CCD sont obtenues à partir des 20 essais illustrés dans le tableau VIII. Les résultats ont montré que la teneur en CPT variés entre 61.75 et 108.66 mg EAG/100 g de la poudre sèche, ceux-ci ne font que confirmer que les facteurs (temps, température et concentration de solvant) ont une influence sur l'extraction des CPT.

L'influence de ces facteurs a été confirmée par l'étude menée par **Ballard et al. (2010)**.

**Tableau VIII** : Résultats des essais du plan d'expérience.

	Temps (min)	Température (°C)	Concentration (%)	CPT (mg EAG/100g PS)
1	30	20	0	80.95
2	60	40	40	104.44
3	60	40	40	103.80
4	60	40	40	108.66
5	60	20	40	104.80
6	30	60	0	100.23
7	30	20	80	74.60
8	90	60	80	61.75
9	60	60	40	107.38
10	60	40	0	91.24
11	90	40	40	92.32
12	30	60	80	70.75
13	30	40	40	93.24
14	60	40	40	106.09
15	90	20	0	84.81
16	90	20	80	66.25
17	90	60	0	108.58
18	60	40	80	61.75
19	60	40	40	100.31
20	60	40	40	95.81

## II.1. Analyse des variances :

### a) Coefficient de détermination $R^2$ :

Le coefficient de détermination  $R^2$  et sa forme ajustée  $R^2_a$  sont largement utilisés dans le cadre d'analyse des données scientifiques pour estimer le pourcentage de la réponse expliquée par le modèle expérimental (Peres-Neto et al., 2006 ; Ouellette et al., 2012).

Dans la présente étude, le coefficient de détermination  $R^2$  du modèle est égale à 0.96 (figure 16), ce qui signifie qu'uniquement 4% des variations ne sont pas expliquées par le modèle ; ce qui est très satisfaisant. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajustée est de l'ordre de  $R^2_a = 0,92$ , ce qui est assez élevé pour confirmer la haute significativité du modèle, sachant que le  $R^2_a$  représente la valeur du coefficient de détermination  $R^2$  après élimination des termes (coefficient) inutiles du modèle.

Un modèle contient beaucoup de termes inutiles (non significatifs) aura une valeur  $R^2_a$  très inférieur à celle du  $R^2$ . L'utilisation d'un  $R^2_a$  sert à évaluer l'adéquation et l'aptitude du modèle et il corrige la valeur  $R^2$  pour la taille de l'échantillon et le nombre de terme du modèle. (El-Adawi et al., 2011).

Le graphe dans la figure 20 des CPT présente une comparaison entre les valeurs prédites et celles observées par le modèle postulé. On constate que le modèle rend bien compte des réponses mesurées car les points restent dans l'intervalle de confiance à 95%.

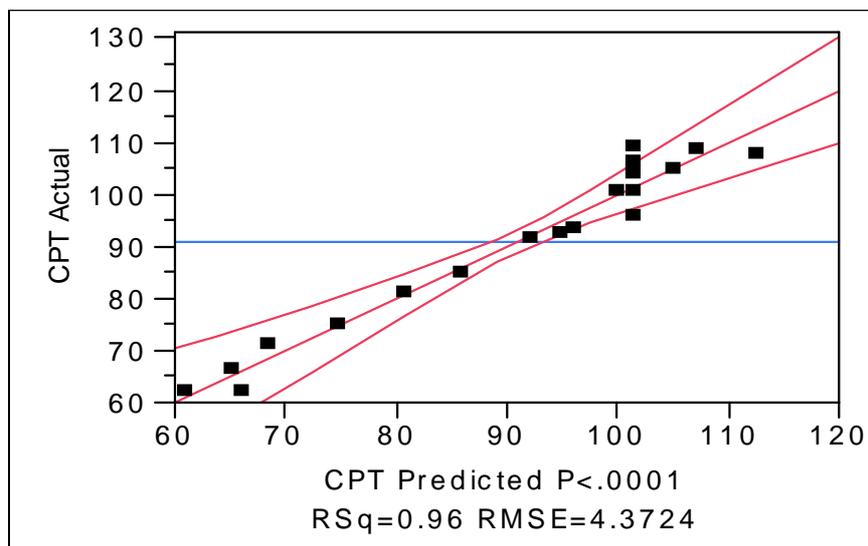


Figure 20 : Plan de prédiction réelle.

## b) Ajustement des modèles :

Le tableau IX présente l'analyse statistique du modèle de régression, dont : Le Coefficient de variation (CV) décrit le degré de dispersion des données. En général, une faible valeur de CV donne une meilleure reproductibilité. Le CV ne devrait pas être supérieur à 10%. S'il dépasse cela indique que la variation de la valeur moyenne est élevée et ne permet pas de développer un modèle de réponse adéquat d'une manière satisfaisante (**Liyana-Pathirana et Shahidi., 2005**). La présente étude a un CV=4,81 alors il est dans la plage acceptable.

Une petite valeur de  $p$  et une grande valeur de  $F$  signifie que les variables correspondantes sont plus significatives (**Dahmoune et al., 2014**).

Le tableau IX montre que le modèle est très significatif ( $p < 0,05$ ) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ( $p > 0,05$ ), ce qui confirme la validation du modèle et peut être utilisé pour optimiser les variables d'extraction (**Chin et al., 2010**). Dans le modèle, si la valeur  $p$  du manque d'ajustement est significative, ce modèle sera rejeté (**Granato et al., 2011**)

Une précision adéquate est une mesure de la plage de réponse prédite par rapport à son erreur associée, c'est-à-dire un rapport de bruit. Un rapport supérieur à 4 est souhaitable. Le rapport de 16,71 pour les CPT indique un signal adéquat ; un bon modèle mathématique ajusté doit présenter des données expérimentales de faible valeur de résidus.

**Tableau IX** : Paramètres descriptifs de l'ajustement du modèle.

Source	Somme des carrés	ddl	Carré Moyen	Valeur $F$	Valeur $p$	
<b>Modèle</b>	4804.43	9	533.83	27.92	<0.0001	Significative
<b>Résidus</b>	191.19	10	19.12			
<b>Total</b>	4995.62	19				
<b>Erreur pure</b>	103.08	5	20.62			
<b>Manque d'ajustement</b>	88.10	5	17.62	0.85	0.5663	Non significative
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9617					
<b>R<sup>2</sup>ajusté</b>	0,9273					
<b>R<sup>2</sup>prédit</b>	0,8714					
<b>Précision adéquate</b>	16,718					
<b>CV(%)</b>	4,81					
<b>PRESS</b>	642,52					

### c) Effets des facteurs :

Les valeurs  $p$  sont utilisés comme un outil pour vérifier la signification de chaque coefficient et indique également l'intensité de l'interaction entre les paramètres. Plus la valeur de  $p$  est petite, plus la signification du coefficient correspondant est grande (Hossain et al., 2009 ; Liu et al., 2010).

Le tableau X comporte les résultats d'analyse qui traduisent les effets des facteurs temps, température et concentration de solvant respectivement présenté par A, B et C sur la réponse (CPT). Les facteurs C et C<sup>2</sup> sont les plus influant sur le rendement de l'extraction, suivi des facteurs BC, B, AC, A<sup>2</sup> et B<sup>2</sup>.

Les facteurs cités précédemment ont donné des « valeurs de  $p$  » inférieures au seuil de signification 5%, ce qui fait que l'équation du modèle s'écrit sous la forme suivante :

$$\text{CPT} = +101.44 + 3.73B - 13.07C - 3.70AC - 6.43BC - 6.04A^2 + 7.27B^2 - 22.33C^2 \dots (3)$$

**Tableau X :** ANOVA pour l'effet de temps, de température et de la concentration de solvant sur le CPT à l'aide d'un modèle de surface à réponse quadratique.

Source	Somme des carrés	ddl	Carré moyen	Valeur F	Valeur p
A-Temps	3.68	1	3.68	0.19	0.6703
B-Température	138.91	1	138.91	7.27	0.0225
C-Concentration Ethanol	1708.11	1	1708.11	89.34	<0.0001
AB	1.86	1	1.86	0.097	0.7616
AC	109.23	1	109.23	5.71	0.0379
BC	330.35	1	330.35	17.28	0.0020
A <sup>2</sup>	100.48	1	100.48	5.26	0.0448
B <sup>2</sup>	145.32	1	145.32	7.60	0.0202
C <sup>2</sup>	1371.22	1	1371.22	71.72	<0.0001

## II.2. Analyse de surface de réponse :

La surface de réponse matérialise la fonction de régression à partir d'un graphique dans un espace à trois dimensions. Le plan horizontal de la figure 21 représente le domaine de variation des deux facteurs, l'axe vertical montre la variation de la réponse à partir du modèle (Rabier, 2007).

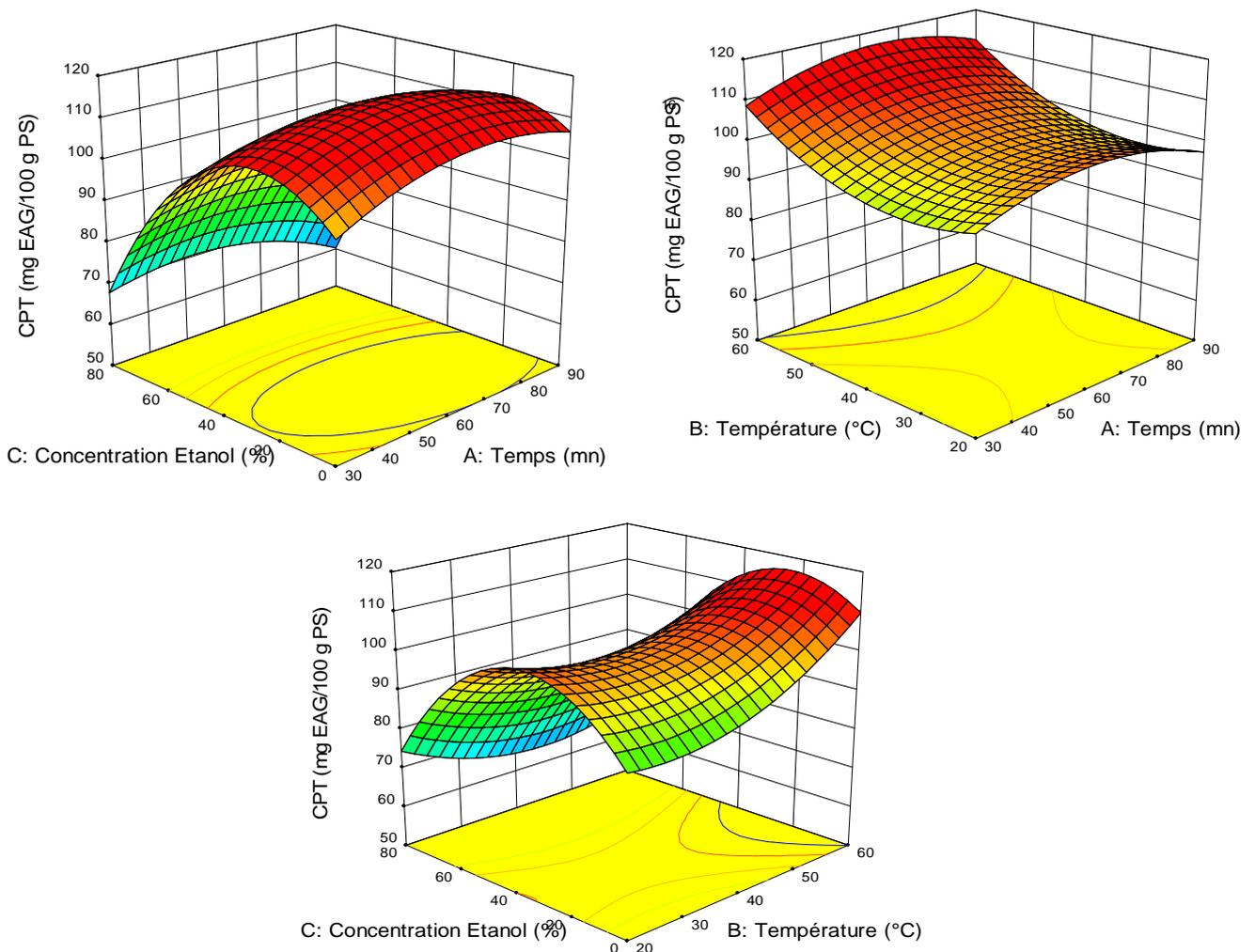
L'effet quadratique du temps sur les CPT a été clairement observé dans la figure 21. Les teneurs ont augmenté graduellement jusqu'aux environs de 60 min où l'optimum a été noté, par la suite une phase de déclin a été observée et cela peut s'expliquer par la

prolongation du temps susceptible d'augmenter le risque de décomposition et d'oxydation des composés phénoliques en raison de leur longue exposition à des facteurs défavorables ; tels que la température, la lumière et l'oxygène (Naczki *et al.*, 2004).

Par ailleurs, les teneurs en CPT ont augmentés lentement de 20 à 60 °C pour qu'elles marquent le meilleur rendement à une température de 60°C, cela indique une grande solubilité des CPT dans le solvant grâce à l'effet de la chaleur.

L'effet quadratique de concentration de solvant a montré qu'une faible concentration en éthanol (20%) a eu un effet très significatif de valeur  $p$  ( $<0.0001$ ) sur la teneur en CPT.

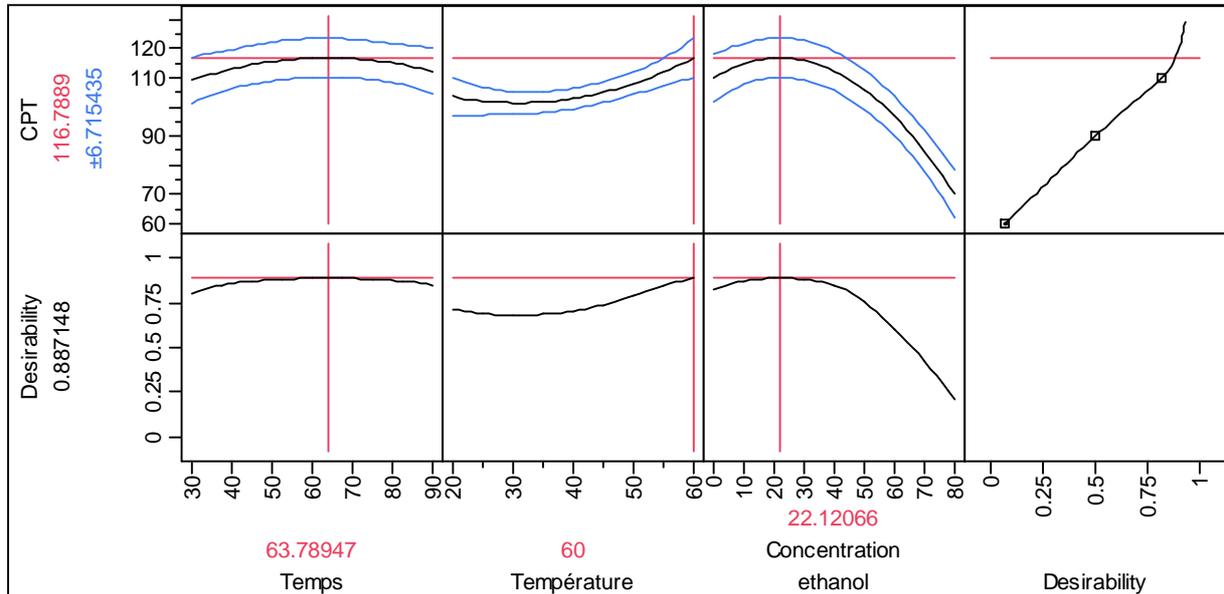
Ces résultats montre que le couple température-concentration en éthanol (BC) influence d'une manière significative et joue un rôle important dans l'extraction des composés phénoliques avec  $p=0,002$ .



**Figure 21 :** Surfaces de réponse obtenues par les effets de variables indépendantes sur les CPT.

### III. Conditions optimales d'extraction :

Les conditions optimales obtenues avec le modèle ont été représentées par la figure 22 ; concentration en éthanol de 22% ; température d'extraction de 60° C et temps d'extraction de 63 min.



**Figure 22 :** Représentation des conditions optimales d'extraction des CPT.

### IV. Validation du modèle :

Les conditions optimisées obtenues par la méthodologie de surface de réponse sont utilisées pour valider le modèle prédit pour l'extraction des composés phénoliques de la graine de tomate. Les résultats du tableau XI montrent nettement que les valeurs expérimentales sont proches de celles prédites ce qui mène à confirmer que le modèle prédit est adéquat car les données expérimentales sont incluses dans l'intervalle de confiance (95%) des valeurs prédites.

**Tableau XI :** Conditions optimales d'extraction des CPT à partir de la graine de tomate exprimé en mg EAG /100g PS.

Temps (min)	T (°C)	Concentration de solvant (%)	valeur Expérimental	valeur Prédite
63	60	22	118.55±5,66	116.78±6.71

## V. Caractérisation phytochimique de l'extrait optimisé :

Le tableau XII représente la teneur en CPT, flavonoïde et activité anti-radicalaire des extraits de graines de tomates comparés à celle de deux antioxydants purs. L'extrait de la graine de tomate a une teneur importante en CPT qui est de  $118.55 \pm 5,66$  mg EAG/100g PS et une teneur en flavonoïde de  $27.57 \pm 1,53$  mg EQ/100gPS.

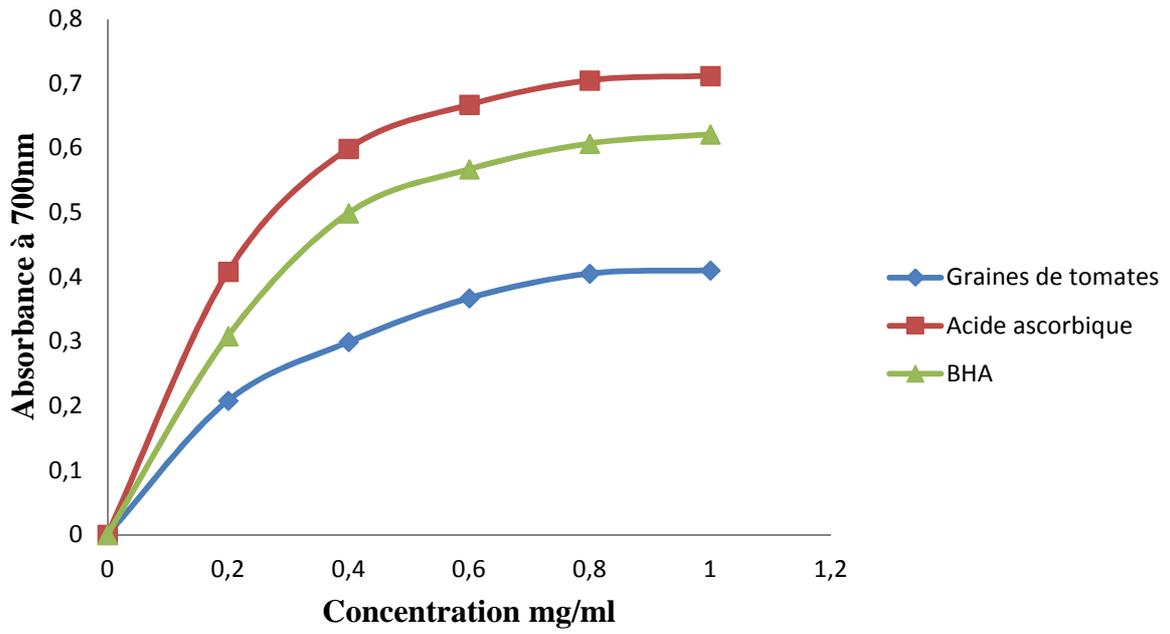
L'activité anti-radicalaire envers le radical DPPH a montré un IC 50 très proche de celui du BHA ; un antioxydant de synthèse souvent utilisé comme additif pour la conservation des aliments et d'autres produits tels que les produits cosmétiques. Cependant, certaines études lui ont attribué un effet cancérigène. A cet effet il serait intéressant de le remplacer par les extraits des graines de tomates.

Les résultats présentés en figure 23 indiquent que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration des extrait s'élève, parallèlement à celle de BHA et l'acide ascorbique. Plusieurs études ont confirmés que le pouvoir réducteur est proportionnel à la concentration des antioxydants (Elmastasa et al., 2006).

Ces résultats peuvent être expliqués par la présence des composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de  $Fe^{3+}$  en  $Fe^{2+}$ .

**Tableau XII :** Teneurs en TPC, en flavonoïdes et activité anti-radicalaire des extraits de la graine de tomate

<b>Teneurs en TPC</b>	<b><math>118,55 \pm 5,66</math> mg EAG /100g PS</b>
<b>Teneur en flavonoïdes</b>	$27,57 \pm 1,53$ mg EAG /100g PS
<b>Activité anti-radicalaire</b>	Graine de tomate : $0,048 \pm 0,005$
<b>IC<sub>50</sub>mg/ml</b>	Acide ascorbique : $0,005 \pm 0,0006$ BHA : $0,038 \pm 0,0003$



**Figure 23 :** Pouvoir réducteur de l'extrait de graines de tomate à différentes concentrations comparé au BHA et à l'acide ascorbique.

La présente étude a été consacrée à l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques de la graine de tomate par la Méthodologie de Surface de Réponse (MSR).

La MSR a permis d'étudier judicieusement l'influence des facteurs temps d'extraction, température d'extraction ainsi que la concentration en éthanol sur les rendements en composés phénoliques totaux (CPT) extraits des graines de tomate.

Les conditions d'extraction optimales qui ont permis l'obtention des meilleurs rendements en CPT était un temps d'extraction de 63min, une température d'extraction de 60°C, et une concentration en éthanol de 22 %. La teneur en composé phénolique totaux sous ces conditions était de 118.55 mg EAG/100g PS ; cette valeur est proche de la valeur prédite par le plan d'expérience qui est de  $116.78 \pm 6.71$  mg EAG /100g PS, ce qui affirme que le modèle est significatif avec un coefficient de corrélation  $R^2$  égale à 0.96, qui certifie sa validité.

L'évaluation de l'activité antioxydante des extraits optimisés de la graine de tomate indique un bon pouvoir réducteur et une bonne activité anti-radicalaire envers le radical DPPH qui s'approche de celui du BHA. Ces derniers résultats montrent que les extraits des graines de tomate constituent une bonne source d'antioxydants naturels et peuvent donc être employés comme conservateur pour prévenir l'oxydation des produits alimentaires et cosmétiques ou pour l'enrichissement des matrices alimentaires.

Pour compléter ce travail, il serait intéressant de caractériser le profil phénoliques des extraits des graines de tomate et tester l'effet de l'addition de l'extrait sur la conservation et l'enrichissement des matrices végétales tels que les concentrés de tomate, la mayonnaise, la margarine ainsi que l'optimisation de l'extraction des caroténoïdes etc...

## A

Abdel-Hamid, Youssef Abdel-Rahman., 1982. The Chemical Constituents of Tomato Seeds. *Food Chemistry* 9(4), 315-318.

APRIA : Association pour la Promotion Industrie Agriculture., 1969. Utilisation des déchets végétaux. 53031/082,180-186 pp.

Araujo, P. W., Brereton, R. G., 1996. Experimental design II. Optimization. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 15(2), 63–70.

Arimboor, R., Natarajan, R.B., Menon, K.R., Lekshmi, P., Chandrasekhar, L.P., Moorkoth, V., 2014. Red pepper (*Capsicum annuum*) carotenoids as a source of natural food colors: analysis and stability-a review. *Association of Food Scientists & Technologists*.

Atherton, J.G., Rudich J., 1986. *The Tomato Crop: A Scientific Basis for Improvement*. Chapman and Hall, London and New York., Pp.661.

## B

Ballard, S., Charbonneau, D., Deming, D., Knutson, H. A., Christiansen, J. L., Holman, M. J., A'Hearn, M. F., 2010. A search for a sub-Earth-sized companion to GJ 436 and a novel method to calibrate warm Spitzer IRAC observations. *Publications of the Astronomical Society of the Pacific*, 122(897), 1341.

Beutner, S., Bloedorn, B., Frixel, S., Blanco, I. H., Hoffmann, T., Martin, H., et al., 2001. Quantitative assessment of antioxidant properties of natural colorants and phytochemicals: carotenoids, flavonoids, phenols and indigoids. The role of b-carotene in antioxidant functions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 559–568.

Bezerra, M. A., Santelli, R. E., Oliveira, E. P., Villar, L. S., & Escaleira, L. A., 2008. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry. *Talanta*, 76(5), 965–977.

Bourgou, S., Ksouri, R., Bellila, A., Skandrani, I., Falleh, H., & Marzouk, B., 2008. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies*, 331(1), 48-55.

## C

Calvo, J. O. 2007. Anatomy of *Futalognkosaurus dukei* Calvo, Porfiri, González Riga & Kellner, 2007 (Dinosauria, Titanosauridae) from the Neuquén Group (Late Cretaceous), Patagonia, Argentina. *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 65(4), 511-526.

Candioti, L.V., De Zan, M.M., Camara, M.S., Goicoechea, H.C., 2014. Experimental design and multiple response optimization. Using the desirability function in analytical methods development. *Talanta* 124, 123-138.

Cantarelli, P. R., Regitano-d'Arce, M. A. B., & Palma, E. R., 1993. Physicochemical characteristics and fatty acid composition of tomato seed oils from processing wastes. *Scientia Agricola*, 50(1), 117–120.

Chin, C., Grimm, R., Julienne, P., & Tiesinga, E., 2010. Feshbach resonances in ultracold gases. *Reviews of Modern Physics*, 82(2), 1225.

Cotte, F., 2000. Etude de la valeur alimentaire de pulpe de tomate chez les ruminants : Thèse pour l'obtention de grade de Docteur vétérinaire - Université Claude Bernard de Lyon1, 135p.

Crozier, A., Jaganathb, I.B. Cliffordc, M.N., 2009. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. *Natural Product Reports*, 26 (8): 965–1096.

## D

D'Alessandro, L. G., Vauchel, P., Przybylski, R., Chataigné, G., Nikov, I., & Dimitrov, K., 2013. Integrated process extraction–adsorption for selective recovery of antioxidant phenolics from *Aronia melanocarpa* berries. *Separation and Purification Technology*, 120, 92-101.

Dahmoune, F., Spigno, G., Moussi, K., Remini, H., Cherbal, A., & Madani, K., 2014. Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction. *Industrial Crops and Products*, 61, 31-40.

Degrou, A.E., 2013. Etude de l'impact des procédés de transformation sur la diffusion des caroténoïdes : Cas du lycopène de la tomate. 190 p.

Derbel, S., Ghedira, K., 2005. Les phytonutriments et leur impact sur la santé. *Phytothérapie et nutrition*; 1 : 28-34.

Djeridane, A., Yousfi, M., Nadjemi, B., Boutassouna, D., Stocker, P., & Vidal, N., 2006. Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food chemistry*, 97(4), 654-660.

Dore, C., Varoquaux, F., 2006. Histoire et amélioration de 50 plantes cultivées, INRA, coll., p. 691.

Duret, X., Fredon, E., Masson, E., Desharnais, L., & Gérardin, P., 2013. Optimization of acid pretreatment in order to increase the phenolic content of *Picea abies* bark by surface response methodology. *BioResources*, 8(1), 1258-1273.

## E

El-Adawi, H., Abdel-Fattah, Y., & El-Wahab, A. A., 2011. Application of numerical modeling for optimization of selective hot water extraction of taxifolin from 'milk thistle' seeds. *African Journal of Biotechnology*, 10(48), 9804-9811.

Elmastasa, M., Isildaka, O., Turkekulb, I., & Temura, N., 2007. Determination of antioxidant activity and antioxidant compounds in wild edible mushrooms. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 337–345.

Erdman, J. W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J. T., Folts, J., Burrowes, J. 2007. Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America Flavonoids Work shop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 718S–737S.

Eskilsson, C. S., & Björklund, E., 2000. Analytical-scale microwave-assisted extraction. *Journal of chromatography A*, 902(1), 227-250.

### G

Génard, M., Robin C., Gautier H., Massot C., Bénard C., Larbat R., Bertin N., 2010. *Innovations Agronomiques*, Vol.9, p. 47-57.

Giovannucci, E., 1999. Tomatoes, tomato-based products, lycopene, and cancer: review of the epidemiological literature. *J. Nat. Cancer Inst.* ;91:317–331.

Golouviev V.N. et Chibane M. (1988). Traitement par membrane de pulpe de tomate. *Ind. Alim. agric.* 10 : 929-932.

Goupy, J., & Creighton, L., 2006. Introduction aux plans d'expériences Dunod. *L'usine nouvelle*, 2(10), 049744.

Granato, D., Katayama, F. C. U., Castro, I. A., 2011. Phenolic composition of South American red wines classified according to their antioxidant activity, retail price and sensory quality. *Food Chemistry*, 129(2), 366-373.

Gupta, V. K., Rastogi, A., & Nayak, A., 2010. Adsorption studies on the removal of hexavalent chromium from aqueous solution using a low cost fertilizer industry waste material. *Journal of Colloid and Interface Science*, 342(1), 135-141.

Guyot, S., Vercauteren, J., & Cheynier, V., 1996. Structural determination of colourless and yellow dimers resulting from (+)-catechin coupling catalysed by grape polyphenoloxidase. *Phytochemistry*, 42(5), 1279-1288.

### H

Hart, D. J., Scott, K. J., 1995. Development and evaluation of an HPLC method for the analysis of carotenoids in foods and measurement of the carotenoid content of vegetables and fruits commonly consumed in the UK. *Food Chemistry*, 54, 101-111.

Heber, D., 2000. Colorful cancer prevention: a-carotene, lycopene and lung cancer. *Am. J. Clinic. Nutr.* ;72:901–902.

Herrero, M., Palaza, M., Cifuentes, A., Ibanez, E., 2012. Extraction Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Food. Elsevier Inc. Volume 4. 159-180.

Hijazi, Z., Oldgren, J., Siegbahn, A., Granger, C. B., & Wallentin, L., 2013. Biomarkers in atrial fibrillation: a clinical review. *European heart journal*, 34(20), 1475-1480.

Ho, H., & Ganesan, A. K., 2011. The pleiotropic roles of autophagy regulators in melanogenesis. *Pigment cell & melanoma research*, 24(4), 595-604.

Hoffman, M et al., 2003. Identification of rate-limiting steps in yeast heme biosynthesis. *Biochem Biophys Res Commun* 310(4):1247-53.

Hossain, M. K., Strezov, V., Chan, K. Y., Ziolkowski, A., & Nelson, P. F., 2011. Influence of pyrolysis temperature on production and nutrient properties of wastewater sludge biochar. *Journal of environmental management*, 92(1), 223-228.

## *J*

Jiang, F., Hsieh, Y.L., 2015. Cellulose nanocrystal isolation from tomato peels and assembled nanofibers. *Carbohydrate polymers* 122, 60-68.

## *L*

Lapornik, B., Prošek, M., & Wondra, A. G. (2005). Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time. *Journal of food engineering*, 71(2), 214-222.

Leandro, L. M., de Sousa Vargas, F., Barbosa, P. C. S., Neves, J. K. O., da Silva, J. A., & da Veiga-Junior, V. F., 2012. Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*, 17(4), 3866-3889.

Leonardi, C., Ambrosino, P., Esposito, F., & Fogliano, V., 2000. Antioxidant activity and carotenoid and tomatine contents in different typologies of fresh consumption tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 4723–4727.

Liu, B., 2010. Uncertain risk analysis and uncertain reliability analysis. *Journal of Uncertain Systems*, 4(3), 163-170.

Liu, B., Peng, J., Zhang, L., Wan, R., Guo, S., Zhou, L., 2010. Optimization of preparation for Co<sub>3</sub>O<sub>4</sub> by calcination from cobalt oxalate using response surface methodology. *Chemical Engineering Research and Design* 88, 971-976.

Liyana-Pathirana, C., & Shahidi, F., 2005. Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. *Food chemistry*, 93(1), 47-56.

Liyana-Pathirana, C.M., Shahidi, F., 2005. Antioxidant activity of soft commercial soft and hard wheat (*Triticum aestivum* L.) as affected by gastric pH conditions. *J. Agric. Food Chem.* ;53:2433–2440.

## *M*

Macheix, J., Fleuriet, A., Jay-Allemand, C., 2005. Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne., p. 4-5.

Messak, R., 2014 .Tomato sector in Algeria. agri benchmark Horticulture conference Italy.

Murdor, D.C., Dacunha, D.T., Rosso, V.V., 2014. Effects of cooking techniques on vegetable pigments: A meta-analytic approach to carotenoid and anthocyanin levels. *Food Research International* 65: 177–183.

Myers, D. G., & Lamm, H., 1976. The group polarization phenomenon. *Psychological bulletin*, 83(4), 602.

## *N*

Naczki, M., & Shahidi, F., 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.

Naika, S., Van Lidt de Jeude, J., de Goffau, M., Hilmi, M. and Van Dam, B., 2005. Cultivation of tomato. Production, processing and marketing. In: B. Van Dam (ed.), *Digigrafi*, Wageningen, The Netherlands.

Neve, J. et Pincemail, J., 2008. Antioxydants alimentaires: vitamines, oligoéléments et non nutritifs. In « aliments fonctionnels ». 2ème édition. Lavoisier PP. 203-953.

Nisar, N(1)., Li, L(2)., Lu, S(3)., Chi Khin, N(1)., et Pogson, B, J(4)., 2015. Carotenoid Metabolism in Plants. *Molecular Plant*. 8: 68–82.

## *O*

Oboh, G., Rocha, JBT., 2007. Antioxidants in Foods: A New Challenge for Food processors. *Leading Edge Antioxidants Research*, Nova Science Publishers Inc. New York US, 35-64.

Owen, P. L., & Johns, T. (1999). Xanthine oxidase inhibitory activity of northeastern North American plant remedies used for gout. *Journal of ethnopharmacology*, 64(2), 149-160.

## *P*

Peres-Neto, P. R., Legendre, P., Dray, S., & Borcard, D., 2006. Variation partitioning of species data matrices: estimation and comparison of fractions. *Ecology*, 87(10), 2614-2625.

Proestos, C., & Komaitis, M., 2008. Application of microwave-assisted extraction to the fast extraction of plant phenolic compounds. *LWT-food science and technology*, 41(4), 652-659.

## *R*

Rabier, J., 2007. High-stress plasticity and the core structures of dislocations in silicon. *physica status solidi (a)*, 204(7), 2248-2255.

Radojkovića, M., Zekovica, Z., Jokicb, S., Vidovica, S., 2012. Determination of optimal extraction parameters of mulberry leaves using Response Surface Methodology(RSM). *Romanian Biotechnological Letters* 17, 7295-7308.

Raffy, L., 2006. La tomate et ses secrets de famille. *Equation Nutrition*, vol. 55, n.5, p.3.

Rao, A. V., Agarwal S., 2000. Role of antioxidant lycopene in cancer and heart disease. *J. Am. College Nutr.* ;19:563–569.

## *S*

Santos, Q. O. dos, Novaes, C. G., Bezerra, M. A., Lemos, V. A., Moreno, I., Silva, D. G. da, & Santos, L. dos., 2010. Application of simplex optimization in the development of an automated online preconcentration system for manganese determination. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 21(12), 2340–2346.

Silva, Filho, D. A., Coropceanu, V., Cornil, J., Olivier, Y., Silbey, R., & Brédas, J. L., 2007. Charge transport in organic semiconductors. *Chemical reviews*, 107(4), 926-952.

Sogi, D.S., Kiran, J., Bawa, A.S., 1999. Caractérisation and utilisation of tomato seed oil from tomato processing waste. *Journal of food Science and Technology*, Trivandrum, v.36,n.3, 248-249 pp.

Soltner., 1988. Les grandes productions végétales. Les collections sciences et techniques agricoles, Ed. 16<sup>ème</sup> éditions 464 p.

Stalikas, C.D., 2010. Phenolic Acids and Flavonoids: Occurrence and Analytical Methods. IN: Uppu R.M., Murthy S.N., Pryor W.A., Parinandi N.L., 2010. *Methods In Molecular Biologytm: Free Radicals and Antioxidant Protocols*. 2<sup>ème</sup> edition, New York. pp 66.

Stewart, A. J., Bozonnet, S., Mullen, W., Jenkins, G. I., Lean, M. E. J, & Crozier, A., 2000. Occurrence of flavonols in tomatoes and tomato-based products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 2663–2669.

## T

Telli, A., Mahboub, N., Boudjeh, S., Siboukeur, O. E. K., et Moulti-Mati. F., 2010., Optimisation Des Conditions D'extraction Des Polyphenols De Dattes Lyophilisees (Phoenix Dactylifera L) Variete Ghars. *Annales des Sciences et Technologie*. Vol. 2, N° 2 .P 107-114.

Toor, R.K., Savage, G.P., 2005. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes. *Food Research International* 38, 487-494.

Tsimogiannis, D.I., Oreopoulou, V., 2006. The contribution of flavonoid C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3V,4V-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7 :140 – 146.

## V

Vautrin, D., 2005. Une peau Zéro défaut. Editions Alpens.a.m., pp 52.

Vega-Galvez., Di Scala, K., Rodriguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., Lopez, J., Perez-Won, M., 2009. Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper. *Food Chemistry*. 117: 647–653.

Vivier, S., 2002. Stratégies d'optimisation par la méthode des Plans d'Expériences, et Application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis, Ecole Centrale de Lille.

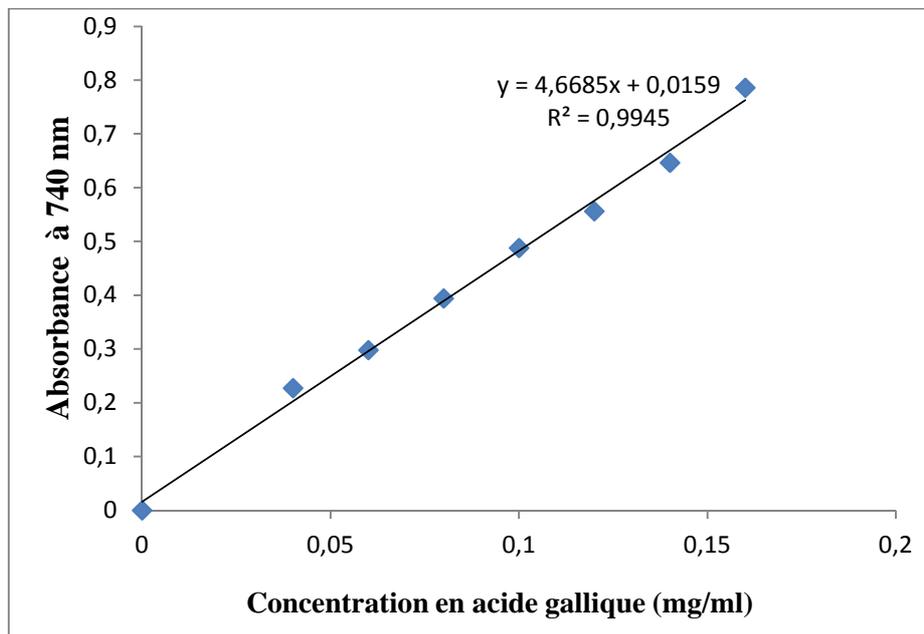
## W

Wong, D. W. S., & Lee, J., 2005. Statistical analysis of geographic information with ArcView GIS and ArcGIS (No. G 70.212. L43 2005). Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.

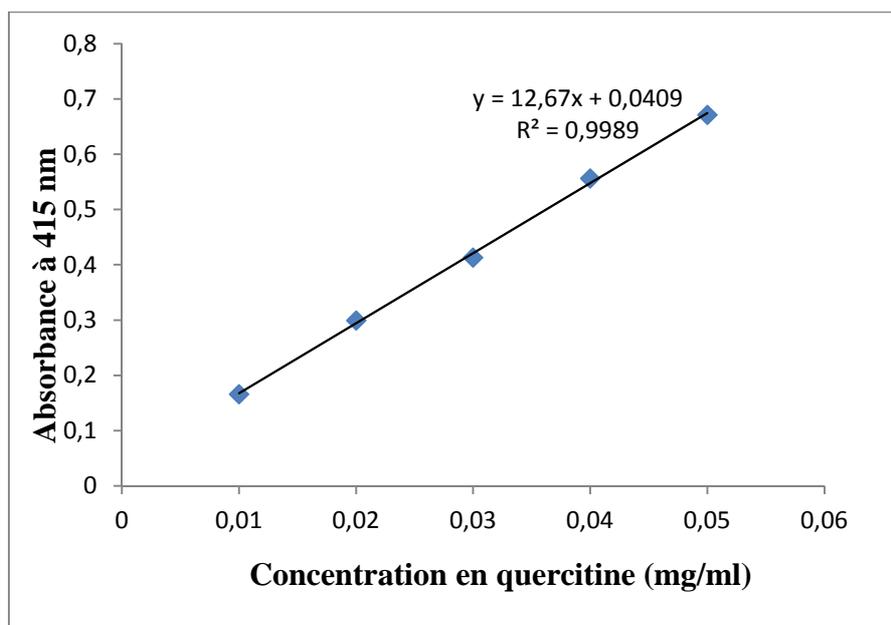
Woodside, J.V., Mcgrath, A.J., Lyner, N., Mckinley, M.C., 2015. Carotenoids and health in older people. *Maturitas*. 80:63–68.

# *Annexes*

Annexe I : Quelques courbes d'étalonnages utilisées.



**Figure 01** : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique pour le dosage des composés phénolique.



**Figure 02** : Courbe d'étalonnage de la quercitine pour le dosage des flavonoïdes.

## Résumé :

L'objectif visé dans ce travail c'est l'optimisation des conditions d'extraction des CPT à partir des graines de tomate qui seront réalisée en deux étapes. Dans la première étape une optimisation préliminaire classique a été conduite dans le but de fixer le domaine expérimental du plan d'expérience de la seconde étape. Le plan composite centré (CCD) a été utilisé pour l'étude de l'effet de trois variable indépendantes ; le temps d'extraction, la température et la concentration du solvant en éthanol sur le rendement de l'extraction. Les conditions optimales qui ont permis d'avoir un meilleur rendement en CPT sont : 63 min pour le temps d'extraction, 60°C pour la température d'extraction et 22% pour la concentration en éthanol alors que le ratio et le poids du poudre sont fixés respectivement à 1/30 (g/ml). Les valeurs expérimentales sont proches des valeurs prédites ce qui confirme la validité du modèle mathématique obtenu ; ainsi que la mesure de l'activité anti-oxydante de l'extrait.

**Mots clés :** Optimisation, graine de tomate, composés phénoliques, réponse surface méthodologie, plan composite centré

## Abstract:

The aim of this work is to optimize the extraction conditions of CPT from tomato seeds, which will be carried out in two stages. In the first step, a classical preliminary optimization was carried out in order to set the experimental domain of the experimental design of the second step. The composite centered design (CCD) was used to study the effect of three independent variables; the extraction time, the temperature and the concentration of the solvent in ethanol on the extraction yield. The optimal conditions which allowed having a better yield in CPT are: 63 min for the extraction time, 60 ° C for the extraction temperature and 22% for the concentration in ethanol however the ratio and the weight of the powder are respectively 1/30 (g / ml). The experimental values are close to the predicted value which confirms the validity of the mathematical model obtained, as well as the measurement of the anti-oxidant activity of the extract.

**Keywords:** Optimization, tomato seed, phenolic compounds, surface response methodology, composite central design.