

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



## MÉMOIRE DE MASTER

En

**Génie des Procédés**

Option

**Génie Alimentaire**

Présenté par : MAHTOUT Anissa & OUKRID Kamir

## Thème

**Modélisation de l'extraction des antioxydants  
et évaluation de la teneur en métaux d'une algue  
marine.**

Soutenue le 04/07/2022

Devant le jury composé de :

Nom et Prénom	Grade	Université	Qualité
M Kachbi A	MCA	Université de Béjaïa	Président
M Sellami F	MCB	Université de Béjaïa	Examineur
M <sup>me</sup> Senhadji O	Professeur	Université de Béjaïa	Encadrant
M Arezoug D	Doctorant	Université de Béjaïa	Co- Encadrant

**Année universitaire 2021/2022**

## Remerciements

Nous tenons à remercier le bon Dieu tout puissant, tous miséricordieux de nous avoir donné le courage et la volonté à mener notre mémoire de fin d'étude à terme.

Toutes nos infinies gratitudee à notre promotrice **Mme Senhadji** pour ses orientations, ses conseils.

Nos remerciements s'adressent également à notre Co-Promoteur **Mr Arezoug Djoumad** pour ses conseils avisés, sa compréhension, sa patience avec nous et son aide précieux.

Ainsi toute l'équipe du laboratoire des procédés membranaires et des techniques de séparation et de récupération **LPMTSR**, madame **Mokhtari Fouzia**, ingénieur de laboratoire, et madame **Benamor Kahina**, technicienne de laboratoire qu'elles nous facilité la mise en œuvre.

Nous remercions aussi les membres de jury qui nous ont fait l'honneur d'accepter le jugement de mon travail.

Enfin nous remercions tous ceux qui ont contribués de près ou de loin à la réalisation de ce travail, trouvent ici l'expression de notre profondes gratitudee et respects.

## *Dédicaces*

*Je dédie ce Modeste travail :*

*\* A mes chers parents : Vous êtes pour moi un sujet de fierté. Vous m'avez toujours appris le sens de la responsabilité, de la raison, du devoir et de la confiance en soi.*

*Au-delà des mots et des phrases, aucune parole ne saurait exprimer mon éternel attachement, mon profond amour, ma perpétuelle affection et l'infinie gratitude que je vous dois. Car votre place dans mon cœur est particulière, nulle ne dédicace et nulle parole ne peut exprimer mon profond amour à votre égard.*

*\* A mes chers frères et sœurs : Meghnia, Nassima, Ghanem, Ryadh, Daouia, Mustapha, Ahcène.*

*\* A la mémoire de mes grands-parents.*

*\* A Tous mes amis (es).*

*\* A ma chère amie et binôme Kamir et à toute sa famille.*

*\* A tous ceux que j'aime et qui m'aime.*

*\* A toute la promo de génie alimentaire 2022.*

*ANISSA*

## *Dédicaces*

*Avec l'aide de Dieu clément et miséricordieux, ce travail a pu voir le jour. Je le dédie :*

*Aux êtres les plus chers : Mon adorable mère et Mon estimable père qui ont toujours été là pour moi, et qui m'ont donné un magnifique modèle de labeur et de persévérances.*

*A mes chers grands parents que dieu les gardes et les protéger*

*A mes chers frères :*

*Meziane, Khaled, Amirouche, Khelaf, Cherif*

*A mes chères cousine : Louiza, Nabila.*

*A mes belles amies :*

*Yousra, Lydia, Kahina, Katia*

*A ma chère binôme Anissa qui a partagé ce travail avec moi.*

*A mon Co- Encadreur : M AREZOUG Djoumad*

*A toute ma famille et toutes mes amies*

*Enfin, nos remerciements vont à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

*KAMIR*

# Liste des abréviations

**DPPH** : Di Phényl Picryl Hydrazyl

**EAG** : Equivalent D'acide Gallique

**EQ** : Equivalent Quercétine

**FC** : Folin-Ciocalte

**ALCL<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O** : Chlorure d'aluminium hexa hydraté

**Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>** : Carbonate de sodium

**FT** : Flavonoïdes Totaux

**PT** : Polyphénols Totaux

**TPT** : Teneur polyphénols totaux

**TFT** : Teneur en flavonoïdes totaux

**PE** : Phycoérythrine

**OH** : Hydroxyle

**UV** : Ultra-violet

**US** : Ultrasons

**Conv** : Conventionnelle

**ICP** : Plasma à couplage inductif

**OFAT** : One facteur at a time

**LPMTSR** : Laboratoire des procédés membranaires et des techniques de séparation et de récupération

**TPT<sub>s</sub>** : Teneur polyphénols totaux à la saturation

**TFT<sub>Conv</sub>** : Teneur flavonoïdes totaux de la méthode conventionnelle

**TPT<sub>US</sub>** : Teneur polyphénols totaux Ultrasons

**TPT<sub>EXP</sub>** : Teneur Polyphénols totaux expérimentaux

**TPT<sub>Mod</sub>** : Teneur polyphénols totaux prédite par le modèle

## Liste des tableaux

Tableaux	Titres	Pages
<b>Chapitre I : Synthèses Bibliographiques</b>		
<b>I.1</b>	Caractéristiques importantes des groupes d'algues	3
<b>I.2</b>	Composition biochimique moyenne d'algues fraîches bretonnes	6
<b>Chapitre II : Matériels et Méthodes</b>		
<b>II.1</b>	Réactifs utilisés	22
<b>II.2</b>	Concentration des étalons de l'acide gallique	26
<b>II.3</b>	Concentration des étalons de la quercétine	28
<b>II.4</b>	Les valeurs des paramètres opératoires à différents niveaux	30
<b>II.5</b>	Matrice des effets du plan factoriel 2 <sup>3</sup>	30
<b>Chapitre III : Résultats et Discussions</b>		
<b>III.1</b>	Les réponses des essais du plan factoriel des polyphénols	36
<b>III.2</b>	Les réponses des essais du plan factoriel des flavonoïdes	37
<b>III.3</b>	Valeurs et signification des coefficients du modèle linéaire	38
<b>III.4</b>	Analyses des variances (recherche de biais)	39
<b>III.5</b>	Analyse des variances (signification de la régression)	40
<b>III.6</b>	Coefficients de détermination R <sup>2</sup> et coefficients de détermination corrigés R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	40
<b>III.7</b>	Conditions optimales d'extraction des TPT et TFT	43
<b>III.8</b>	Les résultats relatifs de la teneur de PT et FT d'extraction conventionnelle et ultrason.	44
<b>III.9</b>	Résultats de la linéarisation de modèle cinétique	46
<b>III.10</b>	Les réponses prédites par le modèle cinétique	48
<b>III.11</b>	Paramètres cinétiques pour le modèle cinétique du second ordre	50

<b>III.12</b>	Pourcentage d'inhibition de DPPH de l'acide gallique	51
<b>III.13</b>	Teneur des plantes en métaux ( $\mu\text{g}$ métal/g matière sèche)	53

## Liste des figures

Figures	Titres	Pages
<b>Chapitre I : Synthèses Bibliographiques</b>		
<b>I.1</b>	<i>Chlorella vulgaris</i>	4
<b>I.2</b>	<i>Halopteris scoparia</i>	4
<b>I.3</b>	<i>Chondrus crispus</i>	5
<b>I.4</b>	Structure du noyau phénol	8
<b>I.5</b>	Squelette de base des flavonoïdes	8
<b>I.6</b>	Structure chimique des flavanones	9
<b>I.7</b>	Structures chimiques de flavonols	10
<b>I.8</b>	Extracteur soxhlet	11
<b>I.9</b>	Extracteur assisté par ultrason	12
<b>I.10</b>	Mécanisme de dommage cellulaire par ultrasons	12
<b>I.11</b>	Spectre électromagnétique de la lumière et domaine UV-visible	13
<b>I.12</b>	Principe de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire	14
<b>I.13</b>	Schéma de l'appareillage d'un spectromètre ICP	15
<b>I.14</b>	Représentation d'un processus	16
<b>I.15</b>	L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étude forment la surface de réponse	17
<b>Chapitre II : Matériels et Méthodes</b>		
<b>II.1</b>	Photographie de la station de récolte (EL'ach El Baz) (Bejaïa)	22
<b>II.2</b>	Cartographie de la station de récolte d'algues étudiée (INCT, 2000)	22
<b>II.3</b>	Broyeur utilisé pour broyer l'algue	23
<b>II.4</b>	Étapes de dosage des polyphénols totaux	25
<b>II.5</b>	Étapes du dosage des flavonoïdes totaux	27

<b>II.6</b>	Structure et couleur de la forme réduite DPPH et celle de la forme radical DPPH'	32
<b>II.7</b>	protocole utilisé pour la détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH	33
<b>Chapitre III : Résultats et Discussions</b>		
<b>III.1</b>	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	35
<b>III.2</b>	Courbe d'étalonnage de la quercétine	35
<b>III.3</b>	Diagramme des résidus TPT	41
<b>III.4</b>	Diagramme des résidus TFT	41
<b>III.5</b>	Cinétique d'extraction des polyphénols totaux par la méthode conventionnelle et par Ultrasons	45
<b>III.6</b>	Cinétique d'extraction des flavonoïdes totaux par la méthode conventionnelle et par Ultrasons	45
<b>III.7</b>	Validation du modèle cinétique du second ordre de l'extraction assistée par ultrasons et conventionnelle des PT	47
<b>III.8</b>	Validation du modèle cinétique du second ordre d'extraction assistée par ultrasons et conventionnelle des FT	47
<b>III.9</b>	Réponses observées et réponses prédites par les modèles cinétiques des deux méthodes d'extraction conventionnelle et ultrasons des PT	49
<b>III.10</b>	Réponses observées et réponses prédites par les modèles cinétiques des deux méthodes d'extraction conventionnelle et ultrasons des FT	49
<b>III.11</b>	Le pourcentage d'inhibition de la DPPH en fonction des concentrations d'AG	51
<b>III.12</b>	Histogramme l'activité antioxydant d'extrait aqueux des méthodes conventionnelle et ultrasons	52

# Sommaire

# SOMMAIRE

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Titres	Pages
Introduction	1
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b>	
<b>I.1. Généralité sur les algues</b>	3
<b>I.1.1. Définition des algues</b>	3
<b>I.1.2. Classification des algues</b>	3
<b>I.1.2.1. Les algues vertes (Chlorophycées)</b>	4
<b>I.1.2.2. Algues brunes (Phéophycées)</b>	4
<b>I.1.2.3. Algues rouges (Rhodophycées)</b>	5
<b>I.1.2.4. Algues bleues (cyanobactéries)</b>	5
<b>I.1.3. Composition des algues</b>	5
<b>I.1.4. Principales utilisation des algues marines</b>	6
<b>I.1.4.1. Utilisation des algues dans l'agroalimentaire</b>	6
<b>I.1.4.2. L'utilisation des algues dans l'alimentation animale</b>	6
<b>I.1.4.3. L'utilisation des algues en agriculture</b>	7
<b>I.1.4.4. L'utilisation des algues dans la fabrication des produits de santé et de bien-être</b>	7
<b>I.1.4.5. L'utilisation des algues dans la biotechnologie</b>	7
<b>I.2. Présentation générale sur les polyphénols et Flavonoïdes</b>	8
<b>I.2.1. Les polyphénols</b>	8
<b>I.2.1.1. Classification des polyphénols</b>	8
<b>I.2.1.1.1. Polyphénols simples</b>	8
<b>I.2.1.1.2. Polyphénols complexes (tanins)</b>	9
<b>I.2.2. Les flavonoïdes</b>	9

<b>I.2.2.1. Flavanones</b>	9
<b>I.2.2.2. Flavonols</b>	9
<b>I.2.3. Le pouvoir antioxydant des polyphénols</b>	10
<b>I.3. Méthodes d'Extraction solide-liquide</b>	10
<b>I.3.1. Infusion</b>	10
<b>I.3.2. Décoction</b>	10
<b>I.3.3. Macération</b>	11
<b>I.3.4. Extraction par Soxhlet</b>	11
<b>I.3.5. Extraction par ultrasons</b>	11
<b>I.3.5.1. Ultrasons en technologies d'extraction</b>	12
<b>I.3.5.2. Extraction des antioxydants</b>	12
<b>I.4. Méthodes d'analyses</b>	13
<b>I.4.1. Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV visible</b>	13
<b>I.4.2. Spectrophotométrie d'émission à plasma à couplage inductif ICP</b>	14
<b>I.4.3. Principe de l'ICP</b>	14
<b>I.4.4. Avantages de l'ICP</b>	15
<b>I.4.5. Domaine d'application</b>	15
<b>I.5. Plan d'expérience</b>	15
<b>I.5.1. Présentation des plans d'expériences</b>	15
<b>I.5.1.1. Le principe</b>	16
<b>I.5.1.2. Surfaces de réponse</b>	16
<b>I.5.1.3. Formule de codage</b>	17
<b>I.5.2. Modélisation mathématique a priori de la réponse du plan factoriel</b>	18
<b>I.5.2.1. Calcul des coefficients du modèle</b>	18
<b>I.5.2.2. Analyse statistique</b>	18
<b>I.5.2.2.1. Vérification de la signification des coefficients par le test de Student</b>	18
<b>I.5.2.2.2. Test de validation du modèle (Fisher)</b>	19
<b>Chapitre II : Matériels et Méthodes</b>	

<b>II.1. Matériels</b>	21
<b>II.1.1. Appareillages et logiciels utilisés</b>	21
<b>II.1.2. Matériels utilisés</b>	21
<b>II.1.3. Produits chimiques</b>	22
<b>II.1.4. Matériels végétaux</b>	22
<b>II.1.5. Traitement des échantillons</b>	23
<b>II.1.5.1. Séchage</b>	23
<b>II.1.5.2. Broyage</b>	23
<b>II.1.6. Préparation des solutions</b>	23
<b>II.1.6.1. Solution de Folin-Ciocalteu diluée</b>	23
<b>II.1.6.2. Solution de chlorure d'Aluminium hexa hydraté (AlCl<sub>3</sub>, 6H<sub>2</sub>O)</b>	23
<b>II.1.6.3. Solution de carbonate de sodium (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>)</b>	24
<b>II.1.7. Extraction par décoction</b>	24
<b>II.1.8. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes</b>	24
<b>II.1.8.1. Dosage des polyphénols totaux</b>	24
<b>II.1.8.2. Dosage des flavonoïdes totaux</b>	27
<b>II.2. Modélisation de la concentration des polyphénols et des flavonoïdes par les plans d'expérience</b>	29
<b>II.2.1. Intervalle des facteurs</b>	30
<b>II.3. Cinétique extraction</b>	31
<b>II.3.1. Cinétique Méthode conventionnelle</b>	31
<b>II.3.2. Ultrasons</b>	31
<b>II.3.3. Modèle cinétique</b>	31
<b>II.4. Test au radical libre DPPH'</b>	32
<b>II.4.1. Principe</b>	32
<b>II.4.2. Activité anti-oxydante</b>	33
<b>II.5. Analyse des métaux dans l'extrait d'algue</b>	33
<b>II.5.1. Préparation de l'extrait</b>	33

<b>Chapitre III : Résultats et Discussion</b>	
<b>III.1. Dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux</b>	34
<b>III.1.1. Dosage des polyphénols totaux</b>	34
<b>III.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux</b>	34
<b>III.2. Modélisation du processus d'extraction par les plans d'expériences</b>	35
<b>III.2.1. Elaboration du modèle de premier degré</b>	35
<b>III.2.2. Test de signification des coefficients</b>	37
<b>III.2.3. Recherche de biais</b>	38
<b>III.2.4. Test de signification global de la régression</b>	39
<b>III.2.5. Coefficient de détermination</b>	40
<b>III.2.6. Analyse des résidus</b>	41
<b>III.2.7. Discussions des différents effets</b>	42
<b>III.2.8. Optimisation</b>	43
<b>III.3. Cinétique d'extraction des PT et FT par la méthode conventionnelle et ultrasons</b>	44
<b>III.3.1. Modélisation de la cinétique d'extraction</b>	46
<b>III.3.2. Validité du modèle cinétique</b>	49
<b>III.3.3. Comparaison entre l'extraction conventionnelle et l'extraction assistée par ultrasons</b>	50
<b>III.4. Test de l'activité antioxydante au radical libre DPPH'</b>	51
<b>III.5. Analyse des métaux dans l'extrait d'algue</b>	52
<b>Conclusion générale</b>	54

# **Introduction générale**

## Introduction générale

Récemment, et vu la richesse du milieu marin en substances naturelles, la recherche s'est orientée vers l'identification de nouvelles molécules d'origine marine qui suscitent un intérêt croissant en vue de leur application en agroalimentaire, en cosmétique, en pharmacologie et en médecine.

Les algues présentent un intérêt nutritionnel connu et sont exploitées depuis de nombreuses années, notamment par les populations du Sud-Est asiatique [1].

Les algues marines qui sont les organismes les plus efficaces à cause de leurs richesses en métabolites bioactifs, sont classés en algues rouges, algues vertes et algues brunes. Parmi ces biomolécules algales, on trouve : des caroténoïdes, des fibres, des vitamines et des minéraux, et plusieurs substances actives telles que les protéines, les acides gras essentiels, les polysaccharides et les polyphénols [2]. Ces dernières offrent un éventail d'activités biologiques, notamment le pouvoir anti-inflammatoire, antimicrobien, anticancéreux, antiviral, anti-protozoaire, anticoagulante, antifongique, antioxydant, etc. [3].

La qualité alimentaire d'un extrait naturel est liée à l'efficacité et à la sélectivité du procédé d'extraction utilisé. Il existe plusieurs méthodes d'extraction de polyphénols (infusion, macération décoction...etc). L'extraction par décoction est nt choisie dans cette étude afin d'évaluer la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux dans une algue marine. La méthodologie des plans d'expérience est utilisée pour optimiser le processus de leur extraction.

Une étude cinétique d'extraction des polyphénols et flavonoïdes totaux par la méthode conventionnelle et par ultrasons a fait aussi l'objet de cette étude afin de mieux comprendre l'effet du temps d'extraction sur l'opération.

Le pouvoir antioxydant d'extrait d'algue est aussi évalué par le radical libre DPPH. Les éléments métalliques contenus dans les extraits aqueux sont déterminés par la spectroscopie ICP.

En plus de cette introduction, ce manuscrit est divisé en trois chapitres :

- Le premier est consacré à une synthèse bibliographique qui comporte des généralités sur les algues marines, les composés phénoliques, la méthode d'extraction solide-

liquide (décoction), les techniques d'analyses (UV-visibles, ICP) et la méthodologie des plans d'expériences.

- Le deuxième chapitre est dédié aux matériels et les procédures expérimentales employées pour accomplir cette étude.
- Le troisième chapitre englobe l'essentiel des résultats expérimentaux obtenus au cours de cette étude et leurs interprétations. Enfin, le document se termine par une conclusion générale.

**Chapitre I**

**Synthèse**

**bibliographique**

## Chapitre I

## Synthèses bibliographiques

## I.1. Généralité sur les algues

## I.1.1. Définition des algues

Les algues sont des végétaux qui ne possèdent ni tiges, ni feuilles, ni racines. Leur corps est un thalle, d'où leur nom est thallophyte. Les algues sont des organismes aquatiques capables de produire leur propre matière organique par photosynthèse. Elles ont des formes et des dimensions très variables. Certaines sont microscopiques et d'autres mesurent plusieurs mètres de longueur, mais elles ont toutes des caractères communs. Elles sont essentiellement aquatiques dans les eaux douces ou marines, et certaines vivent sur la neige ou la glace des régions polaires et des hautes montagnes. D'autres au contraire supportent dans les eaux des sources thermales des températures élevées (algues thermophiles) [4].

Elles comprennent 20 000 à 30 000 espèces dans le monde, soit 18 % du règne végétal. Jusqu'à aujourd'hui, les macro-algues ont suscité beaucoup d'études [5].

## I.1.2. Classification des algues

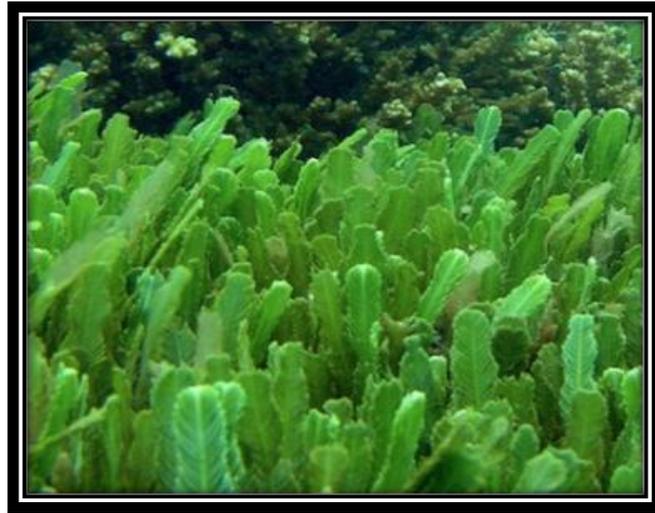
Généralement on trouve quatre groupes qui se différencient par leur couleur, Chaque groupe contient des classes, et chaque classe contient des centaines d'espèces [6].

**Tableau I.1. :** Caractéristiques importantes des groupes d'algues [7].

Embranchement (Règne)	Nom commun	Nombre d'espèces	Pigments
Chlorophytes (Protistes)	Algues vertes	7500	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotène
Phéophytes (plantes)	Algues brunes	1500 d'espèces	Chlorophylle (a,c) Carotène
Phéophytes (plantes)	Algues rouges	3900 d'espèces	Chlorophylle (a,b) Xanthophylles Carotène Zéaxanthine Phycocyanine C Phycoérythrine
Phéophytes (plantes)	Algues bleues	15000 d'espèces	Chlorophylle (a) Allophycocyanines Phycocyanine Phycoérythrine Phycoérythrocyanine

### I.1.2.1. Les algues vertes (Chlorophycées)

Présentent une grande diversité de formes uni-ou pluricellulaires. Leurs plastes sont colorés en vert par les chlorophylles a et b, aux quelles sont associés des carotènes et des xanthophylles. La plupart des algues vertes vivent en eau douce mais aussi les espèces marines sont nombreuses dans les Ulotrichales et les Cladophorales, Elles jouent un rôle important dans l'oxygénation des eaux, favorisant ainsi la vie animale [6].



**Figure I.1 :** *Chlorella vulgaris*

### I.1.2.2. Algues brunes (Phéophycées)

La couleur brune de ces algues est dû aux pigments xanthophylle, la fucoxanthine, qui masque les chlorophylles a et c. Toutes possèdent une structure pluricellulaire, mais leurs dimensions varient depuis les éléments microscopiques jusqu'aux très grands spécimens. La grande majorité des algues brunes sont marines [6].



**Figure I.2 :** *Halopteris scoparia*

### I.1.2.3. Algues rouges (Rhodophycées)

Les rhodophytes ou algues rouges prend à partir de la présence de plastes roses dans lesquels un pigment rouge, la phycoérythrine, est associé à plusieurs autres pigments dont les chlorophylles. Sont des algues annuelles de 3500 espèces, dont les plus consommées sont les algues dulse, nori ou carraghénanes [7].

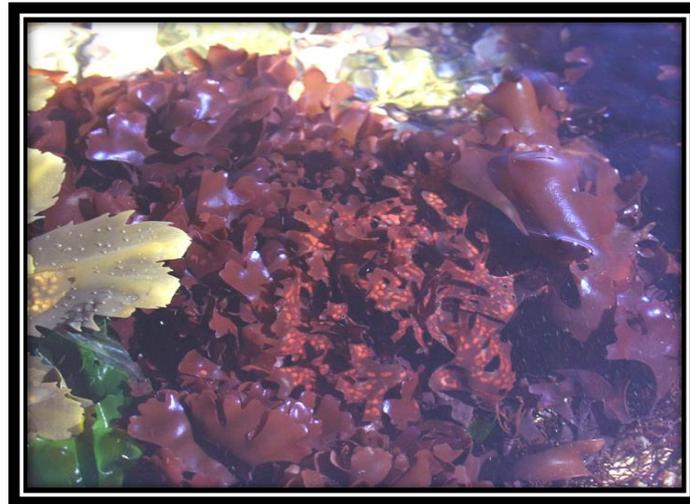


Figure I.3 : *Chondrus crispus*

### I.1.2.4. Algues bleues (cyanobactéries)

Connues sous le nom d'algues bleues sont constitué des colonies de taille, de forme et de couleur très variables. Elle plusieurs pigments bleue (Phycocyanines) et rouges (Phycoérythrine) qui masquent la chlorophylle à, elles peuvent modifier la couleur des eaux où elles prolifèrent [6].

### I.1.3. Composition des algues

Composition chimique des algues varie selon l'espèce, l'habitat, le stade de maturité et les conditions environnementaux [8]. Cette espèce contient sur base sèche 27,7% de cendres, 12,4% de protéines, 2,1% de lipides et 57,8% de glucides [9]. Plusieurs polysaccharides de structure tels que l'alginate et le fucoïdane et de réserve, comme le laminarane sont présents. La plupart des algues marines contiennent des polyphénols algaux aussi appelées phlorotannins. Les phlorotannins constituent un groupe très hétérogène de molécules (structure et dégrade polymérisation) fournissant ainsi une grande variété d'activités biologiques potentielles. Les teneurs les plus élevées sont retrouvées dans les algues brunes qui en contiennent entre 5 et 15 % du poids sec. L'activité antioxydant d'extraits de polyphénols d'algues brunes et rouges a été mise en évidence par des études in vitro [10]. Cependant, les rendements d'extractions sont influencés par plusieurs facteurs.

**Tableau I.2 :** Composition biochimique moyenne d'algues fraîches bretonnes [11].

Pour 100 g algues fraîches	Kombu royal	Wakame	Wakame atlantique	Haricot de mer	Laitue de mer	Dulse
	<i>Saccharina latissima</i>	<i>Undaria pinnatifida</i>	<i>Alaria esculenta</i>	<i>Himanthalia elongata</i>	<i>Ulva sp.</i>	<i>Palmaria palmata</i>
Énergie (kcal)	35	18	26	23	22	24,5
Eau (g)	86,2	90,9	89,4	88,2	88,6	88,4
Protéines ( $n \times 6,25$ ) (g)	1,8	1,7	2,0	1,3	1,6	2,1
Lipides (g)	0,3	0,2	0,3	0,3	0,3	0,2
Glucides (par différence) (g)	3,8	0,5	1,0	1,7	1,1	1,3
Fibres (g)	5,4	3,6	5,6	4,6	4,2	4,5
Sel (g)	1,3	1,8	2,1	1,3	2,2	1,3
Potassium (mg)	962,1	813,4	699,4	1181,4	258,5	1315,9
Magnésium (mg)	113,1	112,5	164,9	110,4	340,3	59,6
Calcium (mg)	140,6	66,5	124,1	95,1	95,1	105,4
Iode (mg)	88,3	1,3	2,1	0,8	0,7	1,1
Fer (mg)	2,9	0,3	1,5	0,2	2,6	2,4
Bêta-carotène (mg)	0,8	0,5	1,6	0,1	0,7	0,5
Vitamine C (mg)	12,7	6,5	19,4	36,8	8,0	7,2
Vitamine B9 ( $\mu\text{g}$ )	33,4	40,1	76,3	16,3	22,3	68,6
Vitamine K1 ( $\mu\text{g}$ )	44,4	66,8	30,0	5,9	2,1	73,1
Polyphénols (mg)	145	152	408	723	44	70
Fucoxanthine (mg)	7,8	6,8	14,4	4,9	—	—

#### I.1.4. Principales utilisation des algues marines

Au cours des dernières années, de nombreux pays se sont intéressés aux algues pour satisfaire leurs besoins nutritionnels et économiques par la recherche de nouvelles applications dans divers domaines.

##### I.1.4.1. Utilisation des algues dans l'agroalimentaire

Dans le domaine de l'agroalimentaire, les algues jouent un rôle important en fournissant des gélifiants comme les alginates. Les alginates, extraits d'algues brunes laminaires, sont largement utilisés dans l'industrie alimentaire en raison de leur forte capacité de gélification. En effet, les extraits d'algues accompagnent notre quotidien comme additifs texturants (gélifiants, épaississants, stabilisants, conservateurs) utilisés entre autre dans les crèmes, les flans, les soupes et les charcuteries [12].

##### I.1.4.2. L'utilisation des algues dans l'alimentation animale

Actuellement, plusieurs compagnies produisent des aliments pour bétail incluant des farines d'algues, le plus souvent brunes comme le *Fucus*, l'*Ascophyllum* et la *Laminaria*, ce qui permet un apport d'oligo-éléments entraînant une meilleure production laitière et une laine ovine de bonne qualité [12].

### I.1.4.3. L'utilisation des algues en agriculture

En agriculture, les algues sont principalement utilisées comme engrais ou comme ingrédient dans la fabrication d'aliments pour le bétail, elles sont transformées en poudre, extraits liquides ou microbilles et sont épandues sur les terres. Elles permettent de retenir l'eau dans le sol, d'améliorer sa texture, de maintenir et d'enrichir le sol par des traces de métaux (Cu, Co, Zn, Mn, Fe, N), de fournir des éléments essentiels aux plantes, d'améliorer la germination, d'augmenter le rendement et d'assurer une défense contre certains pathogènes des cultures. Les algues calcaires, ont été utilisées pour préparer des amendements agricoles qui fertilisent en y apportant des oligoéléments [12].

### I.1.4.4. L'utilisation des algues dans la fabrication des produits de santé et de bien-être

L'utilisation des extraits marins est en forte progression dans ce secteur. De nombreuses recherches tendent à valoriser l'utilisation des algues, notamment à la vue des enjeux économiques considérables liés aux produits cosmétologiques d'appellation biologique [13].

Les métabolites dérivés d'algues ont été répertoriés comme actifs dans les soins anti-âges de la peau, amincissant, antioxydant, photoprotecteur et hydratant. Plusieurs espèces d'algues appartenant à différents groupes sont utilisées en cosmétologie. Parmi elles : *Ulva lactuca*, *Corallina officinalis*, *Fucus vesiculosus* et *Laminaria digitata* [14].

### I.1.4.5. L'utilisation des algues dans la biotechnologie

Le processus biotechnologique des macros algues marines a trois éléments : La cellule et le développement de culture cellulaire, la conception de photo bioréacteur, et l'identification des stratégies pour obtenir la biosynthèse de métabolites secondaires (synthèse biomimétique). L'ingénierie biotechnologique (biomoléculaire) des macros algues marines pour la production de ces composés est un domaine nouveau émergent de la biotechnologie marine. Les Rhodophycées contiennent une protéine particulière appelée phycoérythrine (PE) qui est déjà utilisée dans les applications biotechnologiques comme colorant ou teinture dans des réactions d'immunofluorescence [12].

## I.2. Présentation générale sur les polyphénols et Flavonoïdes

### I.2.1. Les polyphénols

Les polyphénols, dénommés aussi composés phénoliques, sont des molécules spécifiques du règne végétal et qui appartiennent à leur métabolisme secondaire [15-16]. On les trouve dans les plantes, depuis les racines jusqu'aux fruits [17]. L'élément structural fondamental qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau phénolique à 6 carbones (Figure I.4), auquel est directement lié au moins un groupe hydroxyle (OH) libre [18-19].

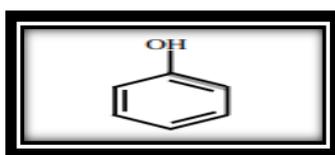


Figure I.4 : Structure du noyau phénol [20].

#### I.2.1.1. Classification des polyphénols

On peut distinguer deux catégories : les composés phénoliques simples et les composés phénoliques complexes

##### I.2.1.1.1. Polyphénols simples

- **Acides phénoliques**

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique [21].

- **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 (Figure I.5) [22]. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils interviennent dans la pigmentation des fleurs et dans les processus de défense contre le rayonnement UV, les herbivores et les attaques microbiennes [23].

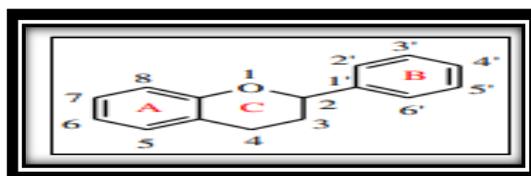


Figure I.5 : Squelette de base des flavonoïdes [23].

Il existe plusieurs classes de flavonoïdes, dont les principales sont les flavones, les flavonols. 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 [24].

### I.2.1.1.2. Polyphénols complexes (tanins)

Les tanins représentent une classe très importante de polyphénols localisés dans les vacuoles [25]. Historiquement, le terme « tanin » regroupe des composés poly-phénoliques caractérisés par leurs propriétés de combinaison aux protéines [26], d'où leur capacité à tanner le cuir. Sur le plan structural, les tanins sont divisés en deux groupes, tanins hydrolysables et tanins condensés [27].

## I.2.2. Les flavonoïdes

### I.2.2.1. Flavanones

Les flavanones sont caractérisées par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 et par la présence d'un centre de chiralité en C2 [24].

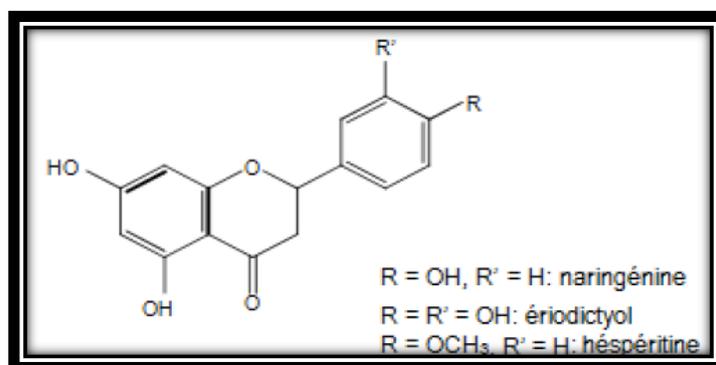


Figure I.6 : Structure chimique des flavanones [23].

### I.2.2.2. Flavonols

Les flavonols se distinguent par la présence d'un groupement OH en position C3 et d'une double-liaison en C2-C3 (Figure I.7). Ils peuvent exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose et L rhamnose [23]. Leurs principaux représentants sont la quercétine, le kaempférol et la rutine.

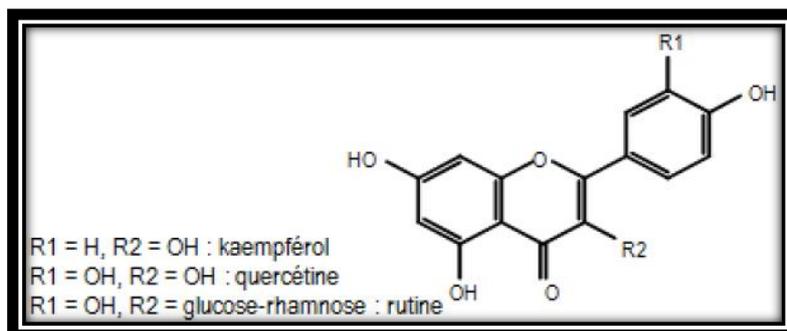


Figure I.7 : Structures chimiques de flavonols [23].

### I.2.3. Le pouvoir antioxydant des polyphénols

Grâce à leur diversité structurale, les composés phénoliques exercent une activité antioxydant via plusieurs mécanismes en agissant à différents niveaux des réactions radicalaires par la chélation des métaux, l'effet scavenger et l'inhibition des enzymes génératrices des radicaux libres [28-29].

### I.3. Méthodes d'Extraction solide-liquide

L'extraction veut dire la séparation des parties actives de tissus végétaux ou animaux des composants inactifs ou inertes à l'aide de solvants sélectifs, traditionnellement l'eau, les huiles végétales ou les graisses animales. Les produits ainsi obtenus sont relativement impurs sous forme de liquides, semi-solides ou poudres, exclusivement destinés à un usage oral ou externe. Il s'agit de préparations connues comme les tisanes et les huiles médicinales [30].

#### I.3.1. Infusion

C'est la forme de préparation la plus simple, elle se prépare en versant de l'eau bouillante sur les parties de plantes fraîches ou séchées et les bien tremper afin d'extraire leurs principes médicinaux.

#### I.3.2. Décoction

Elle convient pour l'extraction de matières végétales dur ou très dur. Elle consiste à faire bouillir les plantes fraîches ou séchées dans de l'eau à des temps précise, pour bien extraire les principes médicinales.

### I.3.3. Macération

Elle consiste à mettre une plante ou partie de plante, dans de l'eau froide (macération aqueuse) ou une huile végétale (macération huileuse), pendant plusieurs heures, voire plusieurs jours, pour permettre aux constituants actifs de bien diffuser [31].

### I.3.4. Extraction par Soxhlet

Un extracteur soxhlet est une pièce de verrerie utilisée en chimie analytique et en chimie organique qui permet de faire l'extraction continue d'un solide par solvant. Quand le ballon est chauffé, les vapeurs de solvant passent par le tube adducteur, se condensent dans le solvant. Le solvant condensé s'accumule dans l'extracteur jusqu'à atteindre le sommet du tube siphon, qui provoque alors le retour du liquide dans le ballon, accompagné des substances extrais. Le solvant contenu dans le ballon s'enrichit progressivement en composés solubles [32].

Un système conventionnel de Soxhlet est représenté sur la figure I.7.

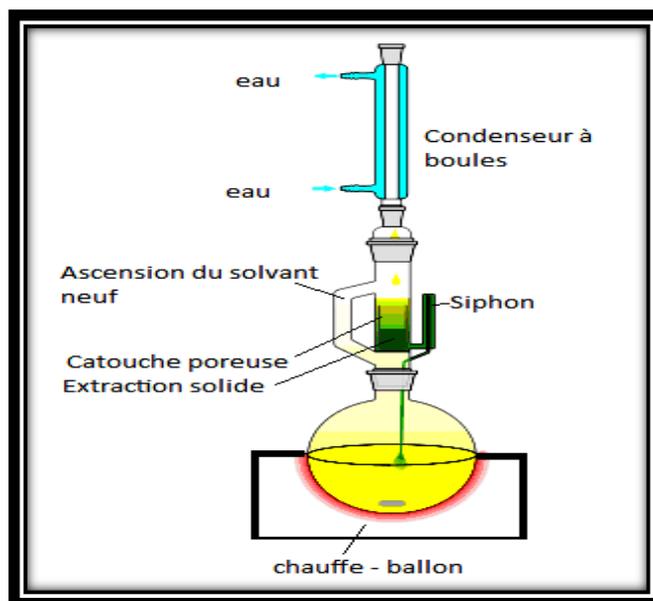


Figure I.8 : Extracteur soxhlet.

### I.3.5. Extraction par ultrasons

Les ultrasons sont des ondes mécaniques qui sont capables de se déplacer dans un milieu élastique à une fréquence (100 kHz) supérieure à la limite maximale d'audibilité de l'oreille humaine (16 kHz).

Le principe de l'extraction assistée par ultrasons est analogue à celui d'une extraction aux solvants ; toutefois, les vibrations provoquées par les ultrasons permettent d'extraire plus rapidement les constituants [33].



Figure I.9 : Extracteur assisté par ultrason.

### I.3.5.1. Ultrasons en technologies d'extraction

L'utilisation des ultrasons pour l'extraction sur les matrices végétales ou alimentaires est un nouvel outil permettant d'augmenter les rendements ou/et d'accélérer les cinétiques d'extraction. Ces améliorations peuvent être attribuées à l'amélioration de la diffusion des substances dissoutes de l'intérieur de la cellule vers le milieu d'extraction. Les premières applications ont été liées à la détermination des métaux dans les aliments. Les applications couvrent aujourd'hui l'extraction de nombreux autres composés comme les arômes, les antioxydants, les huiles et les colorants [34].

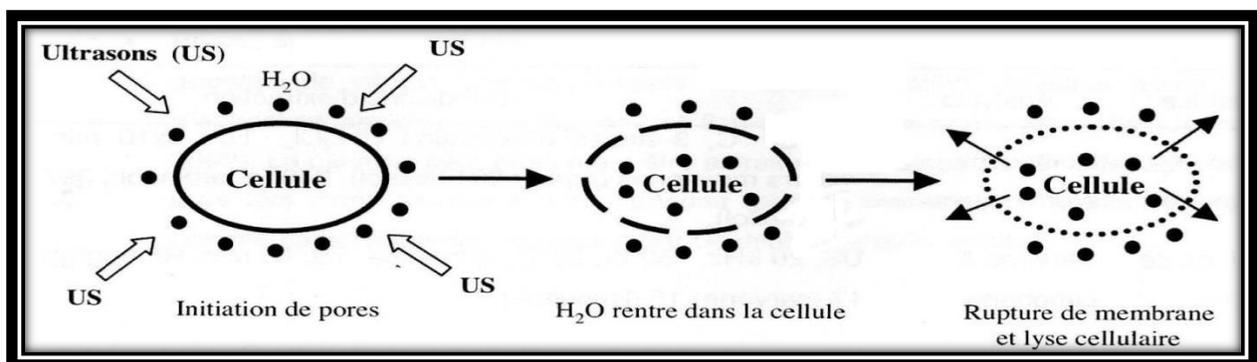


Figure I.10 : Mécanisme de dommage cellulaire par ultrasons

### I.3.5.2. Extraction des antioxydants

Les fruits et légumes sont riches en antioxydants et sont par conséquent intéressants dans un but nutritionnel mais ils peuvent aussi bien l'être dans un but de préservation des aliments. Dans l'industrie agroalimentaire, de plus en plus d'attention est portée au recyclage

des coproduits, eux-mêmes source intéressante d'antioxydants. Comme pour les arômes, l'extraction assistée par ultrasons des antioxydants peut être un outil avantageux dans le but d'optimiser le rendement et la pureté des extraits [35].

#### I.4. Méthodes d'analyses

##### I.4.1. Spectrophotométrie d'absorption moléculaire UV visible

La spectrophotométrie correspond à l'étude des variations de grandeurs photométriques spectrales ou de leur équivalent énergétique résultant de l'interaction du rayonnement avec une substance placée sur le faisceau [36]. Le domaine de longueur d'onde de l'UV se situe entre 10 nm à 400 nm, celui du visible se situe entre 400 nm à 800 nm (Figure I.9).

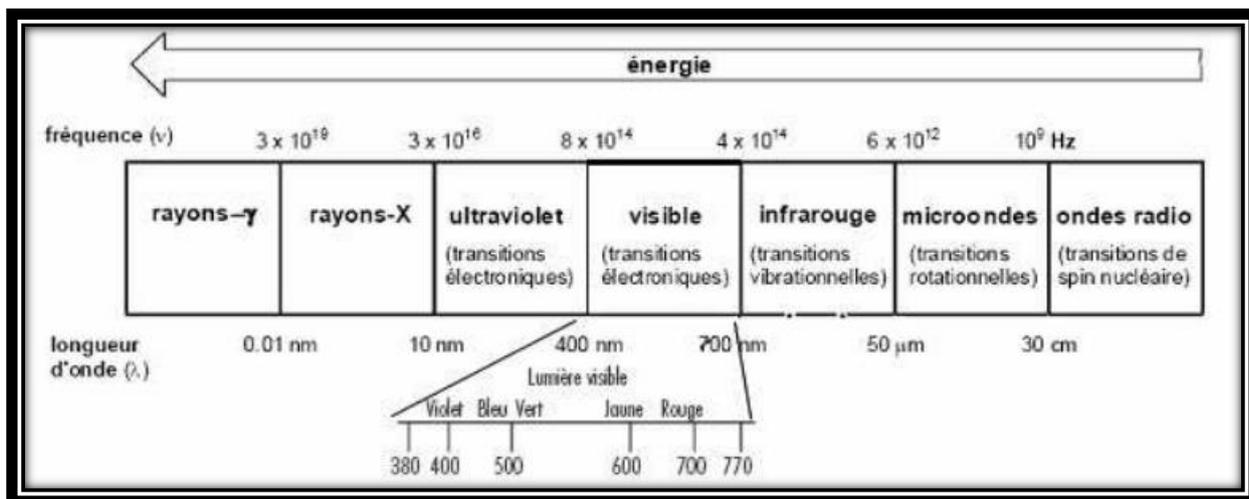


Figure I.11 : Spectre électromagnétique de la lumière et domaine UV-visible [37].

Le terme photométrie signifie que l'on mesure une densité de photons. En spectrophotométrie d'absorption moléculaire, on sélectionne des photons de fréquence  $\nu_0$  absorbables par la molécule à étudier. Ainsi, lorsqu'un faisceau d'intensité  $I_0$  traverse une solution de molécule absorbante, le faisceau transmis présente une intensité  $I$  inférieure à  $I_0$ .

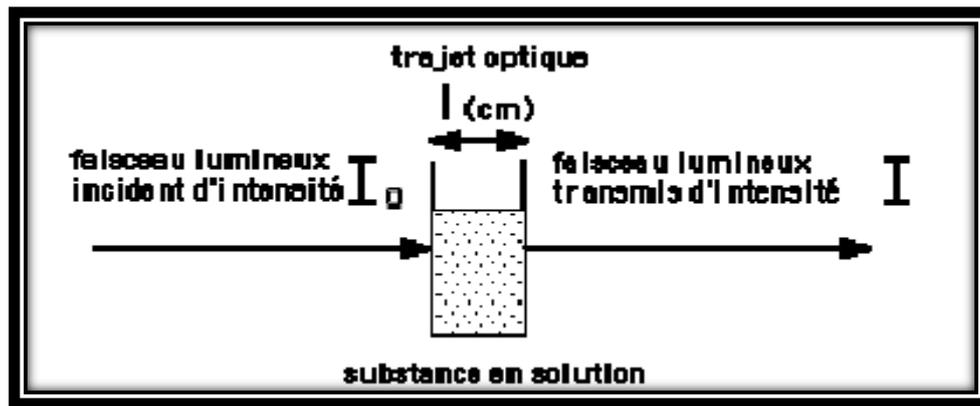


Figure I.12 : Principe de la spectrophotométrie d'absorption moléculaire [38].

#### I.4.2. Spectrophotométrie d'émission à plasma à couplage inductif ICP

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...) [39].

#### I.4.3. 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 [40].

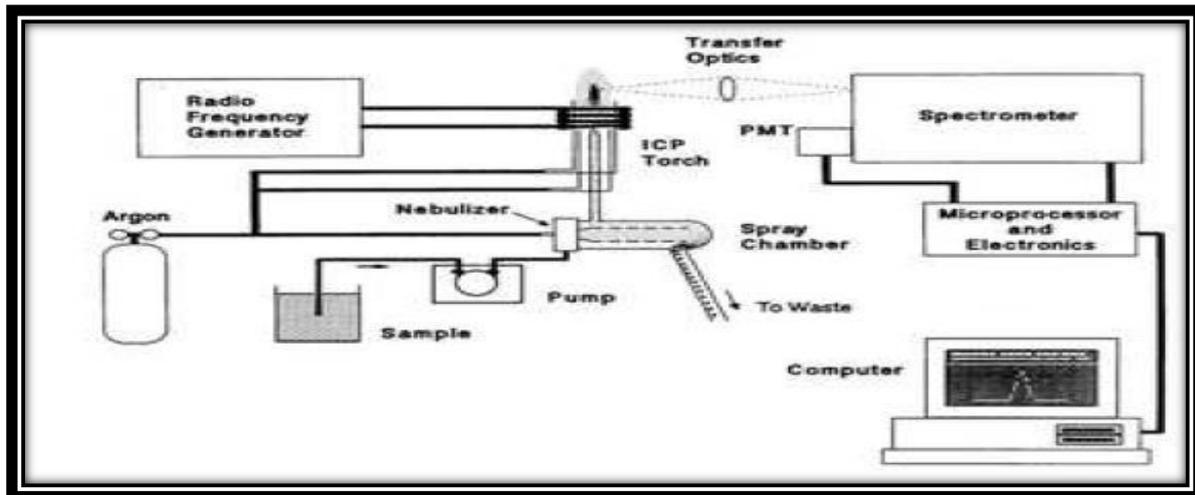


Figure I.13 : Schéma de l'appareillage d'un spectromètre ICP.

#### I.4.4. 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.

#### I.4.5. 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, .... [41].

### I.5. Plan d'expérience

#### I.5.1. Présentation des plans d'expériences

Les techniques de planification d'expériences sont des outils incontournables de l'expérimentation. Pratiquement toutes les méthodes y sont applicables, soit pour le choix d'un « ingrédient » dans un ensemble de produits, soit pour l'optimisation d'une propriété ou pour la recherche d'un compromis entre plusieurs propriétés. La méthode des plans d'expériences est applicable à toutes les disciplines et à toutes les industries lorsqu'on recherche le lien qui

existe entre une grandeur d'intérêt,  $Y$ , et des variables  $X$ , qui peuvent modifier la valeur de  $Y$ .

La méthode intuitive ou la méthode « OFAT », consiste à faire varier un facteur à la fois, et s'il y a plusieurs paramètres à étudier, il faut donc répéter cette technique pour chaque paramètre.

### I.5.1.1. Le principe

Le principe de la méthode des plans d'expériences consiste à varier simultanément les niveaux d'un ou de plusieurs facteurs (qui sont les variables, discrètes ou continues) à chaque essai et de ne pas étudier tous les points expérimentaux mais seulement certains points choisis pour leurs propriétés d'orthogonalités. Ceci permet de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser, tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs. Le point délicat dans l'utilisation des plans d'expériences sera donc de minimiser le plus possible le nombre d'expériences à mener sans sacrifier la précision sur les résultats [42].

- Un plan factoriel complet à deux niveaux (codés  $\pm 1$ ) :  $NF = 2^K$  expériences réalisées aux coins du cube. Ce plan permet de former la base du plan composite à partir de trois variables codées à leurs niveaux hauts et bas.
- Des répétitions au centre du domaine expérimental (codées 0) :  $Nc =$  nombre d'expériences qui peut être fonction de l'expérimentateur. Ces expériences permettent d'évaluer la répétabilité des essais.

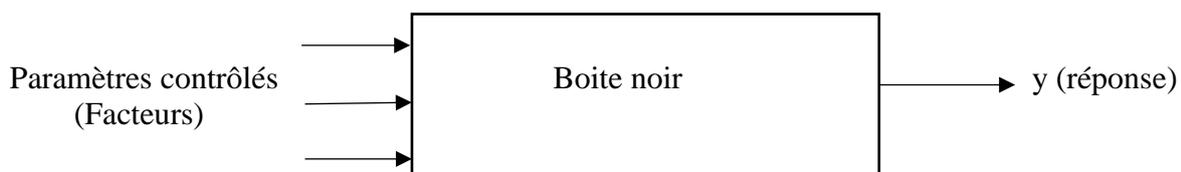
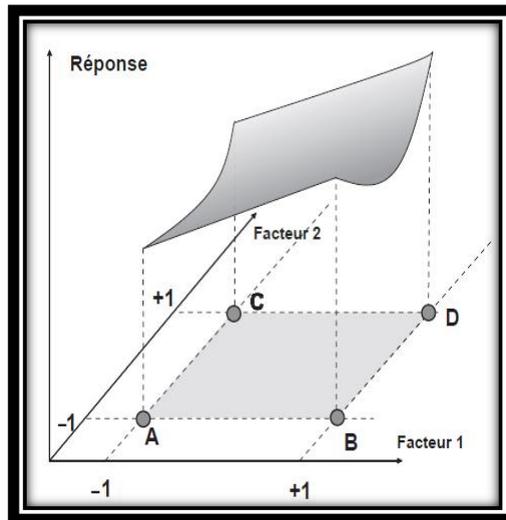


Figure I.14 : Représentation d'un processus

### I.5.1.2. Surfaces de réponse

À chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. À l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localise sur une surface appelée surface de réponse (figure I.15).



**Figure I.15 :** L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étude forment la surface de réponse [43].

### I.5.1.3. Formule de codage

L'établissement du modèle exprimant la réponse en fonction des paramètres opératoires, nécessite la transformation de ces derniers en variables codées ou variables centrées réduites. La formule permettant le passage des variables réelles aux variables codées sont : [44].

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

$$Z_j^0 = \frac{Z_j \text{ max} + Z_j \text{ min}}{2} \quad (\text{II.2})$$

$$\Delta Z_j = \frac{Z_j \text{ max} - Z_j \text{ min}}{2} \quad (\text{II.3})$$

Avec :

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

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

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

$\Delta Z_j$  : Unité ou intervalle de variation suivant l'axe des  $Z_j$  ;

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

$Z_{\text{max}}$  : Valeur maximale de la variable réelle.

**I.5.2. Modélisation mathématique a priori de la réponse du plan factoriel**

En l'absence de toute information sur la fonction qui lie la réponse aux facteurs, on se donne a priori une loi d'évolution dont la formulation la plus générale est la suivante :

$$y = f (X_1, X_2, X_3, \dots, X_n) \tag{II.4}$$

Cette fonction est trop générale et il est d'usage d'en prendre un développement limité de Taylor Mac Laurin, c'est-à-dire une approximation. Si les dérivées peuvent être considérées comme des constantes, le développement précédent prend la forme d'un polynôme de degré plus ou moins élevé :

$$y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + \dots + b_{123}X_1X_2X_3 \tag{II.5}$$

**I.5.2.1. Calcul des coefficients du modèle**

Le plan d'expériences peut se retranscrire sous la forme

$$Y = X B + E \tag{II.6}$$

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 X n'étant pas souvent une matrice carrée, nous avons recourt pour résoudre ce problème à l'écriture matricielle de la méthode des moindres carrés, dont l'équation est : [45].

$$B_j = (X^t X)^{-1} X^t Y \tag{II.7}$$

**I.5.2.2. Analyse statistique**

**I.5.2.2.1. Vérification de la signification des coefficients par le test de Student**

Les valeurs des t<sub>j</sub> sont calculées par l'expression suivante :

$$t_j = \frac{ABS(b_j)}{S_{b_j}} \tag{II.8}$$

Avec t<sub>j</sub> : suit une loi de student

b<sub>j</sub> : le j<sup>ème</sup> coefficient de l'équation de régression

S<sub>b<sub>j</sub></sub> : la variance des coefficients du modèle elle est définit par

$$S_{b_j} = \frac{S_{rep}}{\sqrt{N}} \tag{II.9}$$

Avec : N : le nombre d'essais

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

$$S_{rep}^2 = \frac{\sum_{i=1}^{n_0} (y - \bar{y}_0)^2}{n_0 - 1} \quad (II.10)$$

Avec :  $f = (n_0 - 1)$  degrés de liberté et  $y_0$  la moyenne sur les mesures au centre :

$y_i$  : Valeur de la teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux des essais au centre

$n_0$  : Nombre d'essais au centre

$\bar{y}_0$  : Moyenne des essais au centre calculé par la loi

$$\bar{y}_0 = \frac{\sum_{i=1}^{n_0} y_i}{n_0} \quad (II.11)$$

Si la valeur  $t_j$  calculé est supérieur à la valeur  $t_j$  tabulé 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 différent de zéro. Les coefficients non significatifs sont exclus de l'équation du modèle [46].

#### I.5.2.2.2. Test de validation du modèle (Fisher)

Avant d'accepter le modèle postulé, nous devons vérifier l'absence de biais : Le modèle doit décrire correctement les variations de la réponse en fonction des facteurs [47].

##### a) Recherche de biais du modèle

Le test de Fisher consiste à comparer la variance résiduelle

$$S_{res}^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2}{N - K} \quad (II.12)$$

À  $(N-1)$  degrés de liberté (1 étant le nombre des coefficients significatifs) à la variance de reproductibilité  $S_{rep}^2$ .

Avec :  $\hat{y}$  : est la moyenne des réponses prédites

Si :  $F_1 = \frac{S_{res}^2}{S_{rep}^2} < F(0,95, N-K, n_0-K)$ , alors le modèle n'est pas biaisé.

##### b) 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 [47].

$$F_2 = \frac{\sum_{i=1}^N ((\hat{y}_i - \bar{y})^2) / (K - 1)}{\sum_{i=1}^N (y_i - \hat{y}_i)^2 / (N - K)} \quad \text{Avec : } \bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^N y_i}{N} \quad (II.13)$$

Si  $F_2$  calculé est supérieur à la valeur  $F_2$  tabulée du test de Fisher pour le niveau de signification  $\alpha=0,05$  et les nombres de degrés de liberté  $f_1 = K - 1$  et  $f_2 = N - K$ , alors le modèle est valide à 95%.

**c) Coefficient de détermination**

Appelé aussi coefficient de corrélation, il est défini par [48].

$$R^2 = \frac{\text{variation due à la régression}}{\text{variation totale}}$$
$$R^2 = \frac{\sum_{i=1}^N (\hat{y}_i - \bar{y})^2}{\sum_{i=1}^N (y_i - \bar{y})^2} \quad (\text{II.14})$$

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

$$R_c^2 = R^2 - (1 - R^2) \frac{K-1}{N-K} \quad (\text{II.15})$$

Où  $R_c^2$  est la valeur corrigée du coefficient de régression multiple.

**d) Analyse des résidus**

$$e_i = (y_i - \hat{y}_i) \quad (\text{II.16})$$

L'analyse des résidus consiste à porter ces derniers en fonction des réponses prédites. On doit arriver à des diagrammes ne laissant apparaître aucune relation ou tendance entre les grandeurs étudiées [49].

# **Chapitre II**

## **Matériels et méthodes**

## Chapitre II

### Matériels et Méthodes

Dans ce chapitre, nous allons récapituler les différents matériels et protocoles expérimentaux utilisés lors de notre étude.

#### II.1. Matériels

##### II.1.1. Appareillages et logiciels utilisés

Les appareils et les logiciels utilisés sont :

- Un spectrophotomètre « EVOLUTION 220, Thermo SCIENTIFIC », couplé avec un ordinateur, en utilisant des cuves en quartz de trajet optique de 1cm ;
- Logiciels : Excel 2013 ;

##### II.1.2. Matériels utilisés

- Un Thermomètre pour la mesure de la température ;
- Une micropipette (100 à 1000  $\mu$ l) « TRANCFERPETTE BRAND » ;
- Une plaque chauffante avec agitation ;
- Un broyeur (RETSCH. ZM 200) pour le broyage de l'algue ;
- Un distillateur pour la préparation de l'eau distillée ;
- L'eau pure ;
- Erlenmeyers ;
- Balance électronique de 1mg de précision (OHAUS) ;
- Entonnoir ;
- Bêchers ;
- Fioles jugées de 25 ml, 50 ml, et 1000 ml ;
- Papier absorbant ;
- Papier filtre (Wattman N°2) ;
- Para-film ;
- Papier aluminium ;
- Pissette ;
- Conductimètre « INOLAB, pH lever 1 » ;
- Spatule ;
- Etuve ;

### II.1.3. Produits chimiques

L'ensemble des réactifs utilisés lors des expériences sont rassemblé dans le Tableau ci-dessous :

**Tableau II.1 : Réactifs utilisés**

Réactifs	Masse molaire (g/mole)	Pureté (%)	Formule chimique
Trichlorure d'aluminium hexa hydraté.	241,33	100	$\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$
Carbonate de sodium.	105,99	99,8	$\text{Na}_2\text{CO}_3$
Réactif de Folin –Ciocalteu	/	/	/
Méthanol	32,04	99	$\text{CH}_4\text{O}$
Acide gallique	118,14		$\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5, \text{H}_2\text{O}$
Quercétine	302,24	95	$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{O}_7$

### II.1.4. Matériels végétaux

L'algue marine utilisée dans cette étude fait partie des Phéophycophyte (*Halopteris scoparia*). C'est une algue très commune sur les côtes méditerranéennes.

La récolte de cette algue brune est effectuée à la plage EL'ach El-bez, et ce durant le mois de octobre 2019, située à environ 22 Km à l'ouest de la ville de Bejaïa, ( $36^\circ 49' 58,06 \text{ N}$ ,  $4^\circ 58' 05,17' \text{ E}$ ) (figure II.2). C'est une station caractérisée par un substrat rocheux et moyennement battu et calme (figure II.1). L'échantillon a été transporté au laboratoire dans des sacs de polyéthylène opaques.



**Figure II.1 :** Photographie de la station de récolte (EL'ach El Baz) (Bejaïa).



**Figure II.2 :** Cartographie de la station de récolte d'algues étudiée (INCT, 2000).

### II.1.5. Traitement des échantillons

Les échantillons sont nettoyés par lavage avec de l'eau douce afin d'éliminer la poussière, le sable et toutes autres matières suspendues, et les crampons sont enlevés. Un dernier lavage avec de l'eau distillée est effectué.

#### II.1.5.1. Séchage

L'algue est séchée à l'air libre, qui permet d'empêcher les substances thermophiles telles que les polyphénols de la dégradation, afin de se débarrasser de l'humidité jusqu'à obtenir une masse constante. Après séchage l'algue a été coupée en petits morceaux et broyer.

#### II.1.5.2. Broyage

Une fois séchée, l'algue est broyée à l'aide d'un broyeur électrique de marque «RETSCH», jusqu'à obtention d'une poudre fine.



Figure II.3 : Broyeur utilisé pour broyer l'algue

### II.1.6. Préparation des solutions

#### II.1.6.1. Solution de Folin-Ciocalteu diluée

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

#### II.1.6.2. Solution de chlorure d'Aluminium hexa hydraté ( $\text{AlCl}_3, 6\text{H}_2\text{O}$ )

On introduit 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.

### II.1.6.3. Solution de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )

On introduit 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.1.7. Extraction par décoction

On pèse une masse de la poudre d'algue qui varie selon notre matrice (voir tableau II.4) à l'aide d'une balance. On chauffe une quantité d'eau distillée (25ml) dans un erlenmeyer jusqu'à une température indiquée dans la matrice d'expériences.

Dans un autre erlenmeyer on introduit la masse pesée et on ajoute l'eau chauffée, on met le mélange sur la plaque chauffante et sous agitation pendant un temps bien déterminé contrôlé à l'aide d'un chronomètre et à une température maintenue constante et contrôlée à l'aide d'un thermomètre.

On filtre l'extrait d'algue à l'aide d'un filtre. On laisse refroidir jusqu'à température ambiante. A la fin l'extrait est analysé par l'UV visible.

### II.1.8. Dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes

#### II.1.8.1. Dosage des polyphénols totaux

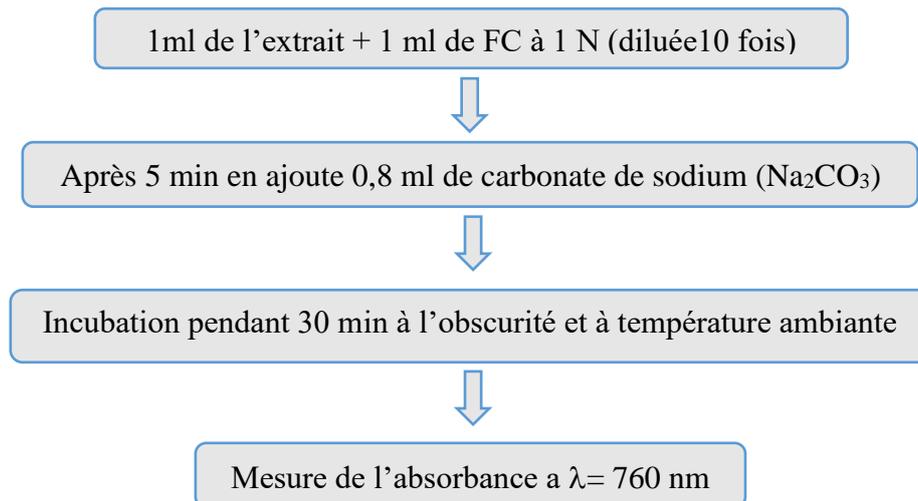
##### ✓ Principe

Le dosage des phénols totaux des extraits est effectué selon la méthode de Folin-Ciocalteu [50]. Ce réactif jaune est constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique, Il est réduit lors de l'oxydation des phénols, en un mélange bleu d'oxydes de tungstène et de molybdène possédant une absorption maximale aux environs de 760nm [51].

##### ✓ Protocole

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.

Le protocole du dosage est effectué comme suit :



**Figure II.4 :** Etapes de dosage des polyphénols totaux [52].

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par l'eau distillée.

#### ✓ Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

L'absorbance est mesurée à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations des extraits en polyphénols totaux est déduite à partir de l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage établie avec de l'acide gallique, les résultats sont exprimés en milligramme (mg) équivalent d'acide gallique par cent gramme de la matière sèche algale (mg EAG/100g MS).

#### ✓ Préparation de la solution mère d'acide gallique mono hydraté ( $C_7H_6O_5, H_2O$ )

A l'aide d'une balance on pèse 0,0236 g de l'acide gallique, versée dans une fiole de 50 ml dont la concentration est  $4 \cdot 10^{-4}$  g/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 :

$$C_0 \times V_0 = C_1 \times V_1$$

$$(4 \times 10^{-4}) \times V_0 = C_1 \times 25$$

$$C_1 = (4 \times 10^{-4}) \times V_0 / 25$$

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

**Tableau II.2 :** Concentration des étalons de l'acide gallique

C * 10 <sup>-2</sup> (mg/ml)	0	0,05	0,16	0,32	0,4	0,48	0,64	0,72	0,88
V (ml)	0	0,08	0,1	0,2	0,25	0,3	0,4	0,45	0,55

0,128	1,6	2	2,08	2,4	2,8	3,2
0,8	1	1,25	1,3	1,5	1,75	2

✓ **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 100g de matière Sèche. Elle est calculée d'après l'équation de la droite d'étalonnage de l'acide gallique.

Les extraits sont préparés en ajoutant 0,1g de la matière sèche (algue broyer) à 25 ml d'eau distillée, dont la concentration est de :

$$[MS] = \frac{0,1 \text{ g MS}}{25 \text{ ml}} = 0,004 \text{ g MS/ml eau}$$

Après la lecture de l'absorbance à 760 nm, on calcule la concentration des PT en mg EAG à partir de l'équation de la droite d'étalonnage obtenue.

$$[PT] = X \text{ (mg EAG/ml)}$$

La teneur en polyphénols est exprimée en mg EAG/ g MS

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \frac{X}{0,004} = 250 X \text{ (mg EAG/ g MS)}$$

La teneur en polyphénols est exprimée en mg EAG/ 100 g MS

$$\frac{[PT]}{[MS]} = \left[ \frac{X}{0,004} \right] * 100 = 25000 X \text{ (mg EAG/ 100 g MS)}$$

X : Concentration des étalons en AG dans l'extrait d'algue (mg EAG/100 g MS)

### II.1.8.2. Dosage des flavonoïdes totaux

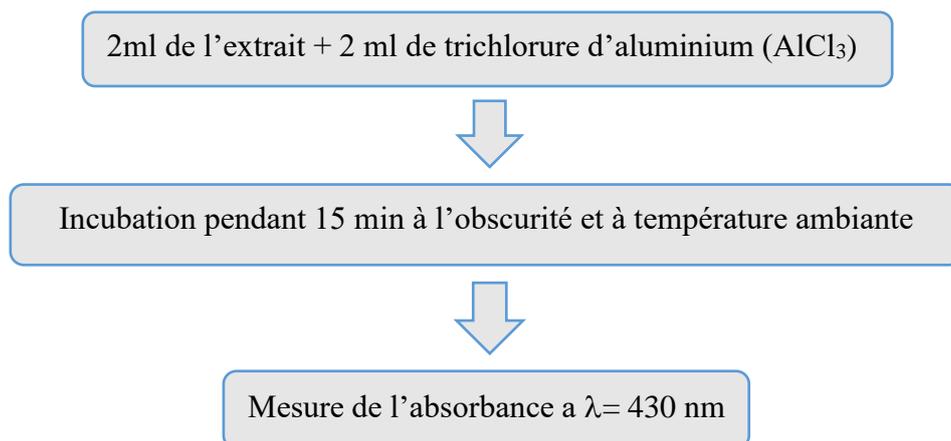
#### ✓ Principe

La teneur en flavonoïdes des extraits est déterminée en utilisant la méthode du trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) [53]. Cette méthode est basée sur les propriétés chélatrices de l'ion aluminium. Le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) forme un complexe très stable avec les groupements hydroxyles (OH) des flavonoïdes. Ce complexe de couleur jaune absorbe dans la lumière visible à une longueur d'onde de 430 nm.

#### ✓ Protocole

La concentration des flavonoïdes dosés est exprimée en mg équivalent de quercétine par 100g de matière sèche en se référant à une courbe d'étalonnage obtenue avec la quercétine.

Le protocole du dosage est effectué comme suit :



**Figure II.5 :** Etapes du dosage des flavonoïdes totaux [52].

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par l'eau distillée.

✓ **Courbe d'étalonnage de la quercétine**

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 la quercétine**

A l'aide d'une balance on pèse 0,028 g de la quercétine, est introduit dans une fiole de 50 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 (V<sub>0</sub>) à ajouter pour la préparation de ces étalons sont calculés de la manière suivante :

$$C_0 \times V_0 = C_1 \times V_1$$

$$5,6 \times 10^{-4} \times V_0 = C_1 \times V_1$$

$$C_1 = (5,6 \times 10^{-4}) \times V_0 / 25$$

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

**Tableau II.3 : Concentration des étalons de la quercétine**

C*10 <sup>-2</sup> (mg/ml)	0,224	0,28	0,336	0,504	0,56	0,672	0,784	0,896
V (ml)	0,1	0,125	0,15	0,225	0,25	0,3	0,35	0,4

1,12	1,568	1,792	2,016
0,5	0,7	0,8	0,9

✓ **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 polyphénols

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de quercétine par 100g de matière sèche. Elle est calculée d'après l'équation de la droite d'étalonnage de la quercétine.

Les extraits sont préparés en ajoutant 0,1g de la matière sèche (algue broyer) à 25 ml d'eau distillée, dont la concentration est de :

$$[MS] = \frac{0,1 \text{ g MS}}{25 \text{ ml}} = 0,004 \text{ g MS/ml eau}$$

Après la lecture de l'absorbance à 430 nm, on calcule la concentration des FT en mg EQ à partir de l'équation de la droite d'étalonnage obtenue.

$$[FT] = X \text{ (mg EQ/ml)}$$

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg EQ/ g MS

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \frac{X}{0,004} = 250 X \text{ (mg EQ/ g MS)}$$

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg EQ/ 100 g MS

$$\frac{[FT]}{[MS]} = \left[ \frac{X}{0,004} \right] * 100 = 25000 X \text{ (mg EQ/ 100 g MS)}$$

X : Concentration des étalons en Q dans l'extrait d'algue (mg EQ/100 g MS).

## II.2. Modélisation de la concentration des polyphénols et des flavonoïdes par les plans d'expérience

Afin d'étudier l'effet et les interactions de paramètres jugés plus influents (temps, température et rapport masse/ volume) sur le processus de la décoction d'algue marine (*Halopteris scoparia*). Nous avons utilisé la méthodologie des plans d'expériences, qui permet de modéliser, d'optimiser et de trier le maximum d'information sur le processus avec minimum d'expérience.

Pour réaliser nos expériences on a choisi un plan factoriel complet à deux niveaux  $2^3$  et un plan composite centré complété par des points au centre et des points en étoile.

La réponse à modéliser est la teneur en polyphénols et en flavonoïdes (mg EAG/ 100g MS) de l'algue marine (*Halopteris scoparia*).

II.2.1. Intervalle des facteurs

Les valeurs extrêmes des paramètres opératoires (Z1, Z2, Z3) sont bornées après une série d’expériences préliminaire et sont résumées dans le tableau II.4.

**Tableau II.4 :** Les valeurs des paramètres opératoires à différents niveaux

Variables réelles	Variables Centrées réduites	Point		
		Niveaux bas	central	Niveaux hauts
		-1	0	1
Z1 : T (C°)	X1	38	57	77
Z2 : t (min)	X2	16	25	34
Z3 : m (mg/ml)	X3	0.1	0.2	0.3

Dans le plan factoriel 14 manipulations doivent être menées afin d’évaluer l’effet des trois paramètres (t, T° et m/v) sur le rendement d’extraction des composés phénoliques ; 8 expériences du plan factoriel et 6 essais au centre du domaine. Ces essais a réalisés sont récapitulés dans la matrice des essais représentée par le tableau II.5

**Tableau II.5 :** Matrice des effets du plan factoriel 2<sup>3</sup>

N° essai	X <sub>0</sub>	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>	X <sub>1</sub> X <sub>2</sub> X <sub>3</sub>
1	+	-	-	-	+	+	+	-
2	+	-	-	+	+	-	-	+
3	+	-	+	-	-	+	-	+
4	+	-	+	+	-	-	+	-
5	+	+	-	-	-	-	+	+
6	+	+	-	+	-	+	-	-
7	+	+	+	-	+	-	-	-
8	+	+	+	+	+	+	+	+
9	+	0	0	0	0	0	0	0
10	+	0	0	0	0	0	0	0
11	+	0	0	0	0	0	0	0
12	+	0	0	0	0	0	0	0
13	+	0	0	0	0	0	0	0
14	+	0	0	0	0	0	0	0

Le modèle linéaire 1<sup>er</sup> degré postulé est le suivant :

$$TPT = b_0 + b_1 T + b_2 t + b_3 m + b_{12} T^*t + b_{13} T^*m + b_{23} t^*m + b_{123} T^*t^*m$$

$$TFT = b_0 + b_1 T + b_2 t + b_3 m + b_{12} T^*t + b_{13} T^*m + b_{23} t^*m + b_{123} T^*t^*m$$

### II.3. Cinétique extraction

Afin de comprendre l'évolution du processus d'extraction des polyphénols et flavonoïdes, une étude cinétique comparative entre la méthode conventionnelle et ultrason a été réalisés après optimisation des conditions.

#### II.3.1. Cinétique Méthode conventionnelle

Une masse de 0,1g est extraite dans 25 ml à température 77 °C en faisant varier le temps (2, 5, 10, 15, 20,30 et 40 min). L'extrait est ensuite filtré et les polyphénols et flavonoïdes totaux sont dosés.

#### II.3.2 Ultrasons

L'extraction de 0,1g dans 25ml est réalisée dans un bac ultrason sous une fréquence de sonification 35khz, à température constante 77 °C en faisant varier le temps (2, 5, 10, 15, 20,30 et 40 min).l'extrait est ensuite filtré et les polyphénols et flavonoïdes totaux sont dosés.

#### II.3.3. Modèle cinétique

La cinétique d'extraction des polyphénols et flavonoïdes à partir de l'algue *Halopteris scoparia* peut être décrit par l'Eq. (II.1) :

$$\frac{dTPT_t}{dt} = k (TPT_s - TPT_t)^2 \tag{II.1}$$

Ou  $TPT_t$  est la teneur en polyphénols totaux dans l'extraction liquide (mg EAG / g MS) à un temps d'extraction donné t (min),  $TPT_s$  est la teneur en polyphénols totaux à saturation dans l'extraction liquide (mg EAG / g MS) et k est la constante de vitesse d'extraction du second ordre ( $g\ mg^{-1}\ min^{-1}$ ).

Afin de déterminer les paramètres cinétiques, Eq. (II.1) est intégré sous les conditions aux limites  $TPT_t=0$  à  $TPT_t$  et  $t =0$  à t, et écrit sous la forme d'Eq. (II.2) ou linéarisée sous la forme d'Eq. (II.3) :

$$TPT_t = \frac{TPT_s^2 \cdot k \cdot t}{1 + TPT_s \cdot k \cdot t} \tag{II.2}$$

$$\frac{t}{TPT_t} = \frac{1}{k \cdot (TPT_s)^2} + \frac{t}{TPT_s} = \frac{1}{h} + \frac{t}{TPT_s} \tag{II.3}$$

Où  $h$  est le taux d'extraction initial ( $\text{g}^{-1} \text{mg min}^{-1}$ ) lorsque  $t$  et  $\text{TPT}_t$  approcher 0. La teneur de polyphénols totaux à tout moment peut être exprimée après réarrangement comme dans l'Eq. (II.4) :

$$\text{TPT}_t = \frac{t}{\left(\frac{1}{h}\right) + \left(\frac{t}{\text{TPT}_s}\right)} \quad (\text{II.4})$$

Le taux d'extraction initial,  $h$ , la teneur en polyphénols totaux à saturation,  $\text{TPT}_s$  et la constante de vitesse d'extraction du second ordre,  $k$ , peut être déterminée expérimentalement à partir de la pente et intercepter en traçant  $t/\text{TPT}_t$  en fonction de  $t$  [54].

Les modèles cinétiques obtenus sont vérifiés par le coefficient de corrélation  $R^2$

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}$$

## II.4. Test au radical libre DPPH•

### II.4.1. Principe

L'activité anti radicalaire est évaluée et rapportée par plusieurs auteurs. Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical 2,2-diphényl-1-picrylhydrazil (DPPH).

Ce dernier est réduit à la forme d'hydrazine (non radical) en acceptant un atome d'hydrogène [55].

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation :

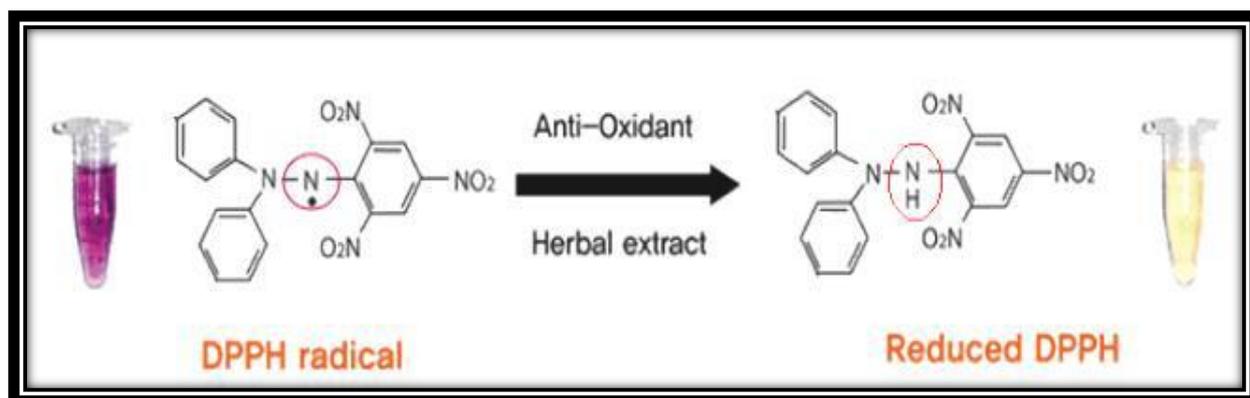
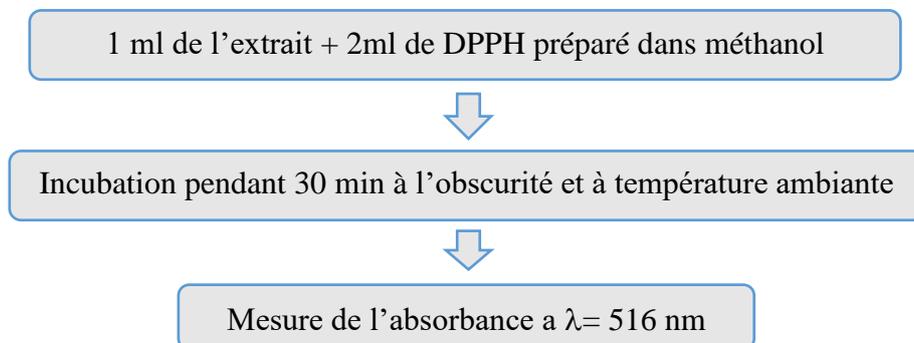


Figure II.6. Structure et couleur de la forme réduite DPPH et celle de la forme radical DPPH• [55].

### II.4.2. Activité anti-oxydante

Pour étudier l'activité anti-radicalaire des produits synthétisés, nous avons choisi la méthode colorimétrique qui utilise le DPPH• comme un radical libre relativement stable [55].



**Figure II.7 :** Protocole utilisé pour la détermination de l'activité antioxydant par le radical DPPH

La lecture de l'absorbance est faite contre un blanc préparé dans les mêmes conditions par le méthanol à **516 nm**.

Le pourcentage de l'activité anti-oxydante (I%) est calculé selon l'équation suivante :

$$I \% = [(AT - AE) / AT] \times 100$$

**I(%) :** Pourcentage d'inhibition du DPPH

**AT :** absorbance du témoin

**AE :** absorbance d'échantillon

### II.5. Analyse des métaux dans l'extrait d'algue

On fait passer dans l'ICP l'extrait déjà préparées pour déterminer sa teneur en élément métalliques.

#### II.5.1. Préparation de l'extrait

A l'aide d'une balance on pèse 0,1 g de notre algue, et on ajoute 25 ml de l'eau pure chauffée à 77°C, sur une plaque chauffante sous agitation pendant 34 min, on filtre l'extrait et on laisse refroidir avant de le passer à l'ICP.

# **Chapitre III**

## **Résultats et**

### **discussions**

## Chapitre III

### Résultats et discussions

L'objectif de notre travail est d'étudier l'extraction par décoction des composés phénoliques à partir d'algue marine *halopteris scoparia* en utilisant la méthode des plans d'expériences. Pour cela, nous avons déterminé les teneurs en polyphénols et flavonoïdes totaux d'extraits aqueux d'algue. Nous avons aussi étudié la différence entre leur cinétique d'extraction par la méthode conventionnelle et par la méthode assistée par l'ultrason. Nous avons déterminé l'activité antioxydante des extraits issus de ces deux dernières méthodes d'extraction et nous avons évalué la teneur en métaux de l'extrait aqueux de notre algue *haloptris scoparia*.

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

##### III.1.1. Dosage des polyphénols totaux

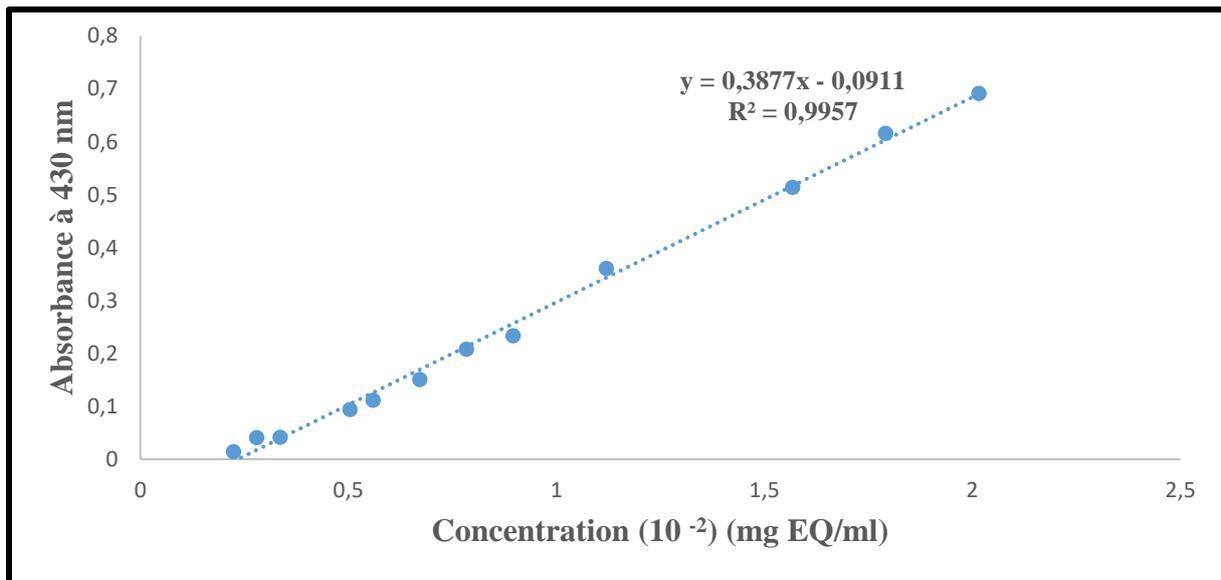
Le dosage des polyphénols totaux a été effectué par la méthode spectrophotométrique adaptée avec le réactif de Folin-Ciocalteu.

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 grammes de matière sèche (mg EAG/100g MS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (Figure III.1).

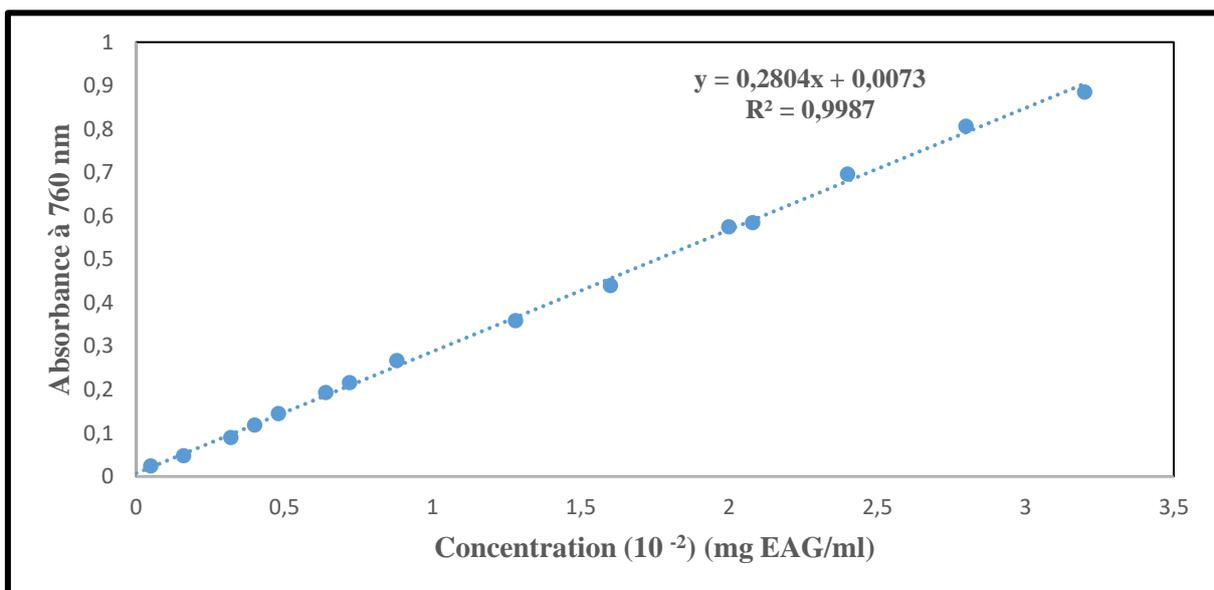
##### III.1.2. Dosage des flavonoïdes totaux

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

Les résultats obtenus sont exprimés en mg équivalent quercitrine par 100 grammes de matière sèche (mg EQ/100gMS), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée avec la quercitrine Figure III.2.



**Figure III.2 :** Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.



**Figure III.2 :** Courbe d'étalonnage de la quercitrine.

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

#### III.2.1. Elaboration du modèle de premier degré

Les paramètres opératoires ( $Z_1$ ,  $Z_2$ ,  $Z_3$ ) considérés pour la modélisation de la teneur en polyphénols (TPT) et en flavonoïdes totaux (TFT), les réponses observées, les réponses prédites du modèle et les résidus sont récapitulés dans les tableaux suivants :

**Tableau III.1** : Les réponses des essais du plan factoriel des polyphénols.

N	Z <sub>1</sub> (T)	Z <sub>2</sub> (t)	Z <sub>3</sub> (m/v)	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	TPT (mg EAG/ 100 g MS)	Y Prédite	Résidus
1	38	16	0,1	-1	-1	-1	191,41	190,39	1,01
2	38	16	0,3	-1	-1	1	150,17	145,45	4,71
3	38	34	0,1	-1	1	-1	192,33	193,33	-1,01
4	38	34	0,3	-1	1	1	161,97	166,67	-4,71
5	77	16	0,1	1	-1	-1	219,83	224,54	-4,71
6	77	16	0,3	1	-1	1	183,29	184,29	-1,01
7	77	34	0,1	1	1	-1	250,47	245,76	-4,71
8	77	34	0,3	1	1	1	188,25	187,23	-1,01
9	57	25	0,2	0	0	0	194,01	192,21	1,79
10	57	25	0,2	0	0	0	190,25	192,21	-1,96
11	57	25	0,2	0	0	0	189,39	192,21	-2,82
12	57	25	0,2	0	0	0	189,42	192,21	-2,79
13	57	25	0,2	0	0	0	198,60	192,21	6,38
14	57	25	0,2	0	0	0	191,45	192,21	-0,75

**Tableau III.2 :** Les réponses des essais du plan factoriel des flavonoïdes.

N	Z <sub>1</sub> (T)	Z <sub>2</sub> (t)	Z <sub>3</sub> (m/v)	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	TFT (mg EQ/ 100g MS)	Y Prédite	Résidus
1	38	16	0,1	-1	-1	-1	89,93	87,7	2,18
2	38	16	0,3	-1	-1	1	40,6	38,43	2,15
3	38	34	0,1	-1	1	-1	103,49	105,67	-2,18
4	38	34	0,3	-1	1	1	54,22	56,37	-2,15
5	77	16	0,1	1	-1	-1	124,63	122,72	1,90
6	77	16	0,3	1	-1	1	86,73	92,96	-6,24
7	77	34	0,1	1	1	-1	138,75	140,65	-1,90
8	77	34	0,3	1	1	1	117,14	110,90	6,24
9	57	25	0,2	0	0	0	83,28	94,43	-11,15
10	57	25	0,2	0	0	0	83,44	94,43	-10,99
11	57	25	0,2	0	0	0	82,75	94,43	-11,68
12	57	25	0,2	0	0	0	80,62	94,43	-13,81
13	57	25	0,2	0	0	0	84,49	94,43	-9,93
14	57	25	0,2	0	0	0	89,96	94,43	-4,47

### III.2.2. Test de signification des coefficients

La signification des différents coefficients est vérifiée par le test de Student, qui consiste à comparer les valeurs de  $t_j$  calculé à la valeur  $t_j$  tabulé.

Les coefficients de  $t_j$  et  $B_j$  sont récapitulé dans le tableau suivant :

**Tableau III.3 :** Valeurs et signification des coefficients du modèle linéaire.

Coeff	Polyphénols totaux				t <sub>tabulée</sub> n <sub>0</sub> -1=5 α/2 = 0,95	Flavonoïdes totaux			
	B <sub>j</sub>	Ecart type	t <sub>jstudent</sub>	Coef Sign		B <sub>j</sub>	Ecart type	t <sub>jstudent</sub>	Coef Sign
b <sub>0</sub>	192,21		151,67	S		94,43		84,82	S
b <sub>1</sub> (T)	18,24		14,39	S		22,37		20,10	S
b <sub>2</sub> (t)	6,04		4,76	S		8,96		8,05	S
b <sub>3</sub> (m/v)	-21,29		16,80	S		-19,76		17,75	S
<b>b<sub>12</sub></b>	<b>2,85</b>	3,58	<b>2,25</b>	<b>NS</b>	2,57	<b>2,17</b>	3,14	<b>1,94</b>	<b>NS</b>
b <sub>13</sub>	-3,39		2,67	S		4,88		4,38	S
<b>b<sub>23</sub></b>	<b>-1,85</b>		<b>1,46</b>	<b>Ns</b>		<b>2,04</b>		<b>1,83</b>	<b>NS</b>
b <sub>123</sub>	-4,56		3,60	S		<b>2,02</b>		<b>1,82</b>	<b>NS</b>

S : Significatif ; NS : Non Significatif ; Coef : Coefficient

D'après le test de Student, on constate que les coefficients significatifs dans les deux modèles sont les coefficients des facteurs (T, t et m/v) et les coefficients des interactions double (T, m/v) ; et le coefficient interaction triple dans le modèle des polyphénols (T, t et m/v).

Après l'élimination des coefficients non significatifs, les deux modèles retenus sont écrit comme ci-dessous :

$$TPT = 192,213 + 18,245 * T + 6,040 * t - 21,296 * m - 3,395 * T * m - 4,569 * T * t * m$$

$$TFT = 94,434 + 22,377 * T + 8,966 * t - 19,764 * m + 4,886 * T * m$$

### III.2.3. Recherche de biais

La recherche de biais peut se faire à l'aide du test de Fisher (F<sub>1</sub>), en comparant la variance résiduelle à la variance de reproductibilité.

Les résultats du test de fisher (F<sub>1</sub>) sont représentés dans le tableau III.4.

**Tableau III.4 :** Analyses des variances (recherche de biais).

	Polyphénols totaux		Flavonoïdes totaux	
	Variance résiduelle	Variance reproductible	Variance résiduelle	Variance reproductible
Somme des carrés	92,84	64,23	104,02	49,57
Degré de liberté	2	5	3	5
Carré moyenne	46,42	12,84	34,67	9,91
$F_1$ (Fisher)	3,61		3,49	
$F_{1\text{tabulée}} p= 0,95$ $f_1 = N-K,$	5,79		5,41	

La valeur de  $F_{1\text{calculée}}$  est inférieure à la valeur  $F_{1\text{tabulée}}$ , donc l'erreur d'ajustement entre le modèle réel et le modèle estimé est négligeable devant l'erreur expérimentale, par conséquent, les équations des deux modèles sont valides et ajustent les données expérimentales.

#### III.2.4. Test de signification global de la régression

La validité du modèle est vérifiée par le test de Fisher ( $F_2$ ), en comparant la régression à la variance résiduelle. Les résultats sont représentés dans le tableau ci-après :

**Tableau III.5** : Analyse des variances (signification de la régression)

	Polyphénols totaux		Flavonoïdes totaux	
	Régression	Variance résiduelle	Régression	Variance résiduelle
Somme des carrés	6842,86	92,84	7965,62	104,02
Degré de liberté	5	2	4	3
Carré moyenne	1368,57	46,42	1991,40	34,67
F <sub>2</sub> (Fisher)	29,48		57,43	
F <sub>2</sub> tabulée p=0,95 f <sub>2</sub> = K-1	19,3		9,12	

Comme F<sub>2calculée</sub> est supérieur à F<sub>2tabulée</sub>, la régression est donc significative.

L'équation de régression peut être considérée comme adéquate et les deux modèles sont valides à 95%.

### III.2.5. Coefficient de détermination

Les coefficients de détermination et les coefficients de détermination corrigés des deux modèles TPT et TFT sont consignés dans le tableau III.5.

**Tableau III.6** : Coefficients de détermination R<sup>2</sup> et coefficients de détermination corrigés R<sup>2</sup><sub>c</sub>

	Polyphénols totaux	Flavonoïdes totaux
R <sup>2</sup>	0,986	0,987
R <sup>2</sup> <sub>c</sub>	0,953	0,969

Les valeurs des coefficients R<sup>2</sup> et R<sup>2</sup><sub>c</sub> obtenus nous permettent d'affirmer que les deux modèles linéaires des polyphénols et des flavonoïdes sont adéquats.

### III.2.6. Analyse des résidus

Afin d'analyser les résidus, on trace les résidus  $e_i = (y_i - \hat{y}_i)$  en fonction des  $y_i$ , les évolutions des résidus en fonction des réponses prédites sont représentées sur les figures III.3 et III.4 pour les TPT et TFT, respectivement

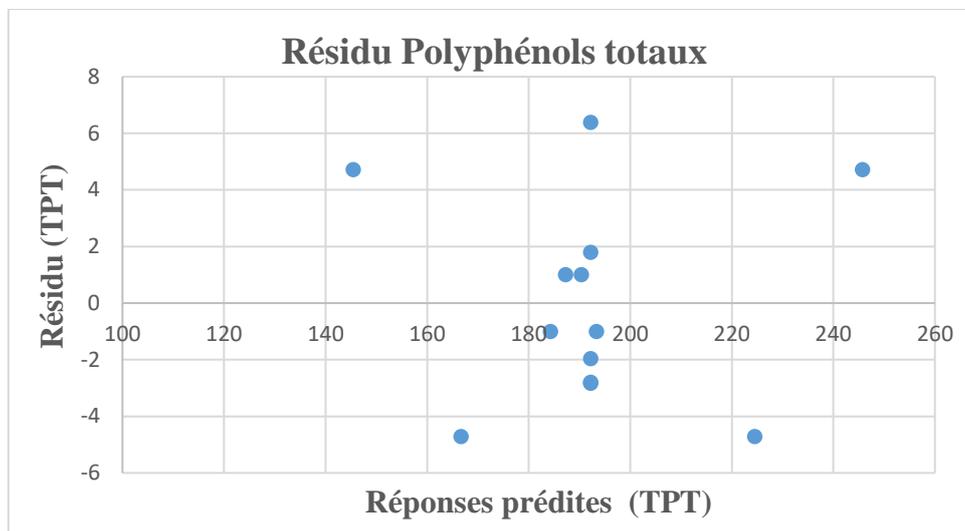


Figure III.3 : Diagramme des résidus TPT.

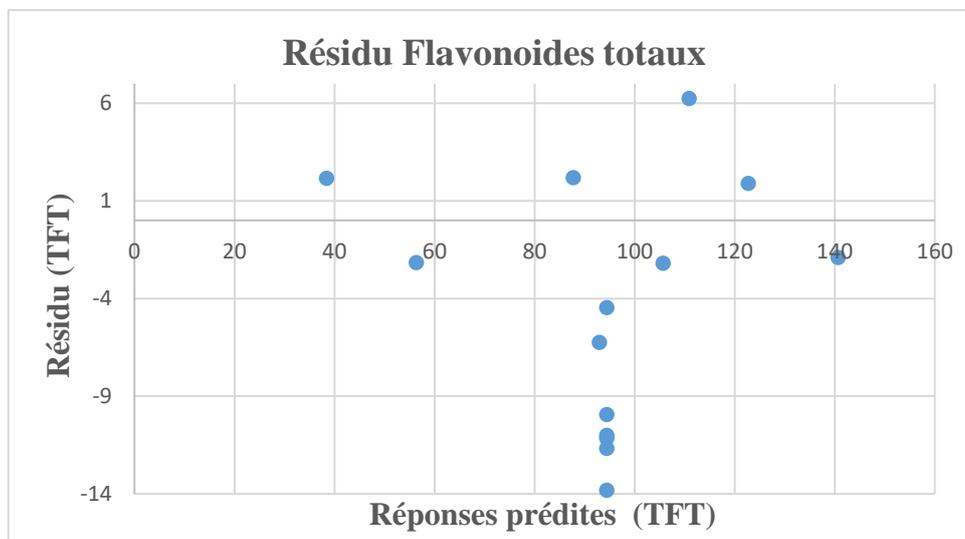


Figure III.4 : Diagramme des résidus TFT.

D'après les diagrammes des résidus, nous constatons que toutes les informations sur la réponse étudiée (teneur en PT et FT) sont expliquées par le modèle.

- **Interprétation Equation teneur en polyphénols totaux du modèle mathématique des polyphénols**

$$TPT = 192,213 + 18,245 * T + 6,040 * t - 21,296 * m - 3,395 * T * m - 4,569 * T * t * m$$

- **Interprétation Equation teneur en flavonoïdes totaux du modèle mathématique des flavonoïdes**

$$\text{TFT} = 94,434 + 22,377 * T + 8,966 * t - 19,764 * m + 4,886 * T * m$$

### III.2.7. Discussions des différents effets

#### ➤ Effet de la température

La température influence significativement l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes d'algue avec une valeur positive de 18, 245 et 22,377, respectivement.

L'utilisation de l'énergie thermique améliore l'efficacité de l'extraction par dérèglement des structures cellulaires. Cette perturbation entraîne une augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire et une rupture des interactions métabolites secondaires-matrice végétale (polyphénols), ce qui entraîne une amélioration de la solubilité des polyphénols et du transfert de masse. L'augmentation de la température du solvant pourrait également diminuer la tension superficielle et la viscosité du milieu d'extraction, par conséquent, améliorer le mouillage du matériel végétal, ce qui se traduirait par une extraction de polyphénols et flavonoïdes dans le milieu d'extraction, atteignant ainsi rapidement la saturation du solvant [56].

#### ➤ Effet du temps d'extraction

Le temps influence significativement l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes d'algue avec une valeur positive de l'ordre 6,040 et 8,966, respectivement.

Une température élevée et une durée d'extraction adéquate pourraient également augmenter le rendement en polyphénols et flavonoïdes. Par contre, une température élevée et une longue durée d'extraction pourraient provoquer une dégradation des polyphénols.

Dans notre études, on remarque que des rendements optimaux de TPT= 250.47 mg EAG/100g MS et de TFT= 138,75 mg EQ/g MS sont obtenus à une température de 77°C et avec un temps d'extraction de t = 34 min correspondant aux bornes limites supérieurs.

#### ➤ Effet du rapport masse/volume

Le rapport masse du substrat /volume d'eau influence négativement et significativement l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes contenus dans l'algue. Les

valeurs négatives du coefficient (relatif à ce paramètre) du modèle mathématique de -21,296 et -19,764 respectivement, l'expriment clairement.

La raison pourrait être liée au fait que si la quantité du substrat (algue) est en excès comparée au volume d'eau utilisée pour l'extraction cela entraîne une saturation rapide du solvant. Cette quantité d'algue peut aussi provoquer une augmentation de la viscosité du milieu et inhibe ainsi la diffusion des polyphénols à travers le milieu d'extraction. L'extraction ne sera donc pas complète et la masse d'algue introduite garde encore des polyphénols et flavonoïdes dans la masse filtrée [56].

### III.2.8. Optimisation

Après modélisation, on a identifié les conditions expérimentales qui permettent l'obtention de la teneur optimale en polyphénols et flavonoïdes totaux.

**Tableau III.7** : Conditions optimales d'extraction des TPT et TFT

Optimum		
Température (°C)	Masse (mg/ml)	Temps (min)
77	0,1	34

Ces conditions correspondent à la 7<sup>ème</sup> expérience du plan factoriel, ou on a obtenu une teneur on polyphénols totaux et on flavonoïdes totaux égale à 250,47 mg EAG/ 100 g MS et 138,75 mg EQ/ 100 g MS respectivement.

La valeur atteinte en TPT dans cette étude est un peu supérieur à celle rapportée par ANA et al. [57] en 2018 (217± 8 mg GAE/100g MS), qui ont fait une extraction par macération de 1.25 g d'algue dans 25 ml d'eau distillée pendant 18 h à température ambiante ; et aussi largement supérieure à celle rapportée par FELLAH et al. [58] en 2017 (105,40± 1,19 mg GAE/100g MS), qui ont fait une macération à température ambiante de 0,5 g dans 50 ml d'eau distillée pendant une heure.

Cette différence peut être due à la différence des conditions d'extraction en temps température, rapport volumique m/v, saison de récolte d'algue...etc.

### III.3. Cinétique d'extraction des PT et FT par la méthode conventionnelle et par ultrasons

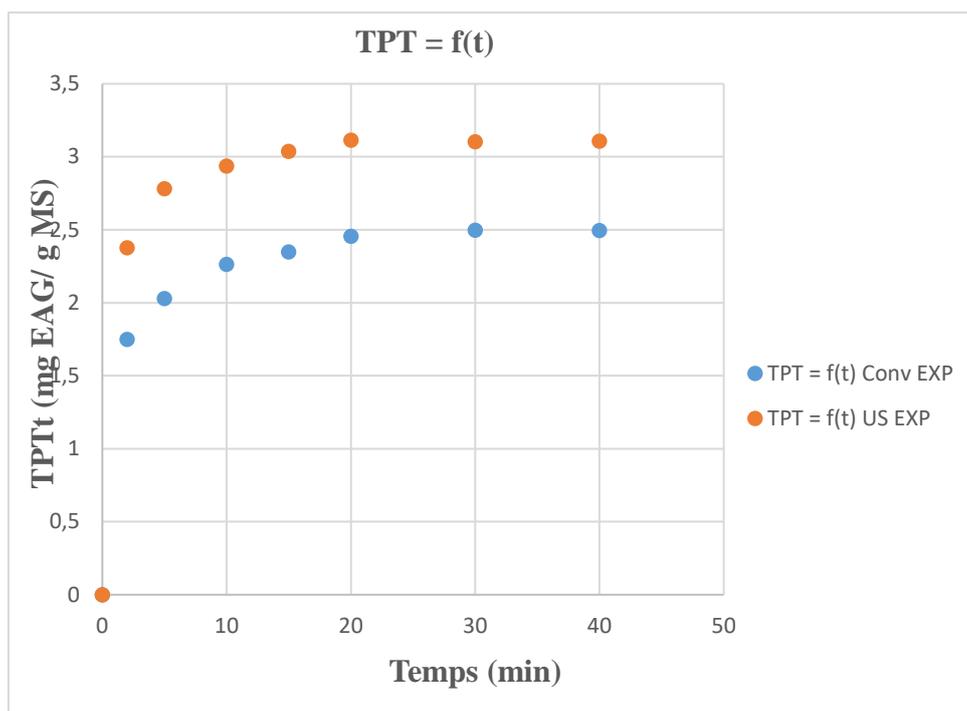
Après modélisation de l'opération d'extraction des PT et FT, nous avons fixé la masse du substrat et la température qui donnent une valeur optimale en TPT et TFT pour l'étude de la cinétique d'extraction. On a donc fixé la température à 77°C et la masse à 0,1g et on a fait varier le temps entre 2 min jusqu' à 40 min (le temps optimal d'extraction 34 min est inclus dans cet intervalle).

Les réponses observées de la cinétique d'extraction de la teneur en TPT et TFT sont récapitulées dans le tableau suivant.

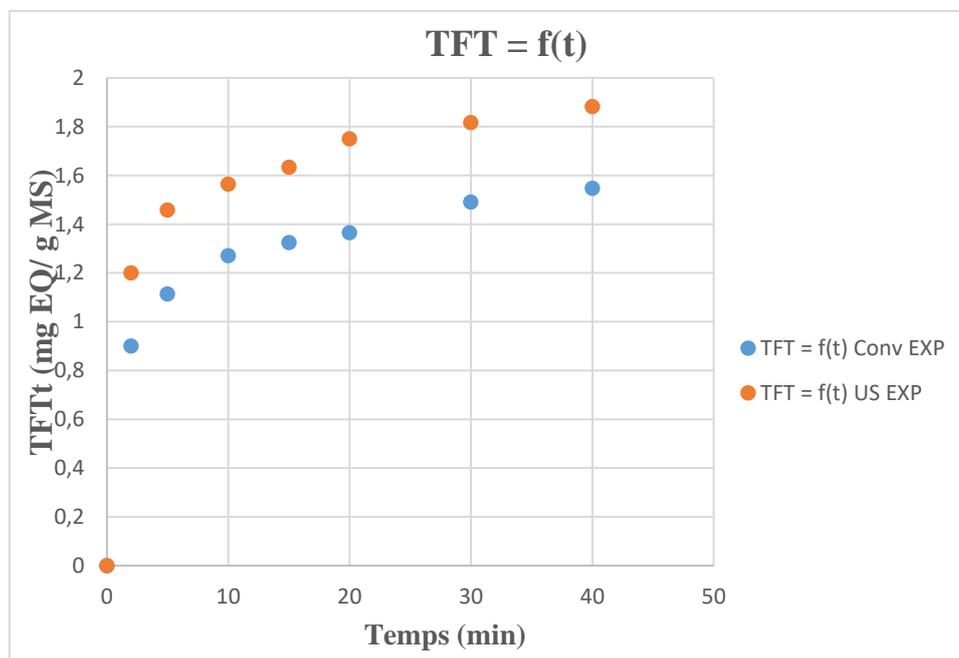
**Tableau III.8 :** Les résultats relatifs à la teneur de PT et FT avec l'extraction conventionnelle et ultrasons.

	Teneur en polyphénols totaux		Teneur en flavonoïdes totaux	
	Conventionnelle	Ultrasons	Conventionnelle	Ultrasons
T (min)	TPTt <sub>EXP</sub> (mg EAG/ g MS)	TPTt <sub>EXP</sub> (mg EAG/ g MS)	TFTt <sub>EXP</sub> (mg EQ/ g MS)	TFTt <sub>EXP</sub> (mg EQ/ g MS)
0	0	0	0	0
2	1,75	2,37	0,90	1,20
5	2,03	2,78	1,11	1,45
10	2,26	2,93	1,27	1,56
15	2,34	3,03	1,32	1,63
20	2,45	3,11	1,36	1,75
30	2,49	3,10	1,49	1,81
40	2,49	3,10	1,54	1,88

La cinétique d'extraction des polyphénols et les flavonoïdes totaux par la méthode conventionnelle et ultrason sont représentée par les deux graphes suivant :



**Figure III.5 :** Cinétique d’extraction des polyphénols totaux par la méthode conventionnelle et par Ultrasons



**Figure III.6 :** Cinétique d’extraction des flavonoïdes totaux par la méthode conventionnelle et par Ultrasons

### III.3.1. Modélisation de la cinétique d'extraction

Le modèle d'ordre 2 est utilisé pour décrire la cinétique d'extraction des PT et des FT. Après linéarisation de modèle cinétique :

$$\frac{dTPTt}{dt} = k (TPT_s - TPT_t)^2 \quad (III.1)$$

On obtient :

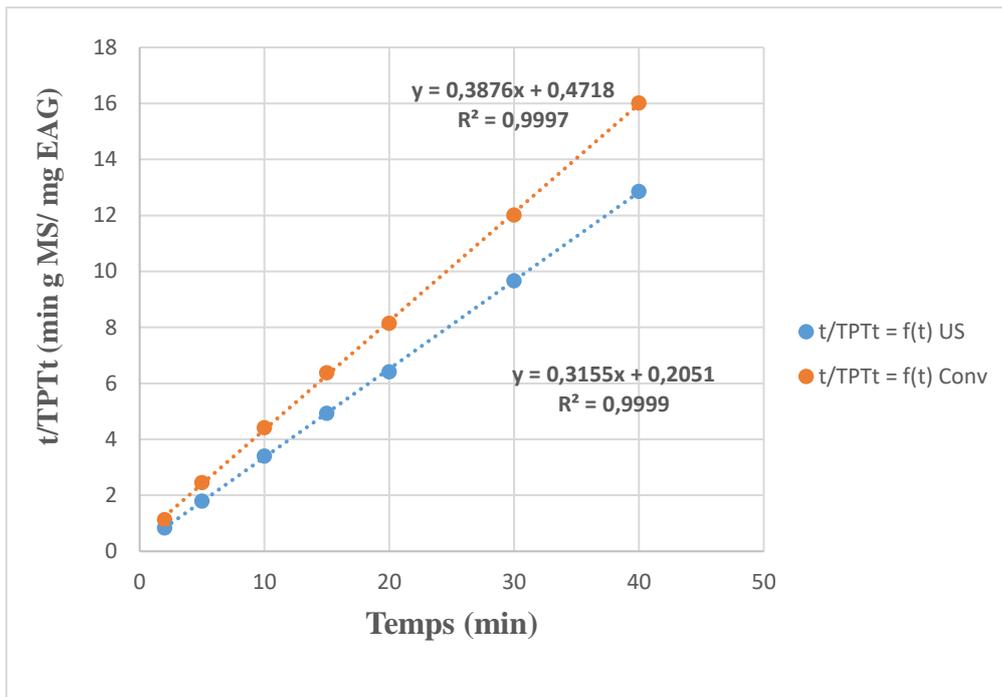
$$\frac{t}{TPTt} = \frac{1}{k(TPT_s)^2} + \frac{t}{TPT_s} \quad (III.2)$$

Le tableau III.9 représente les résultats obtenus après la linéarisation de modèle du cinétique.

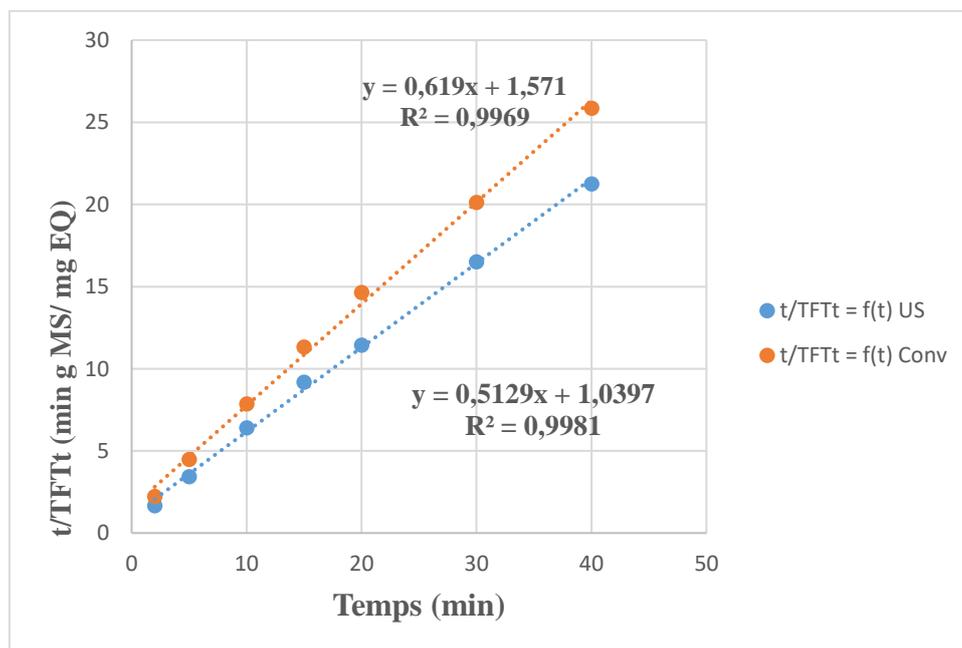
**Tableau III.9 :** Résultats de la linéarisation de modèle cinétique.

T (min)	Teneur polyphénols totaux		Teneur flavonoïdes totaux	
	Conventionnelle	Ultrasons	Conventionnelle	Ultrasons
	t/TPTt (min g MS/ mg EAG)	t/TPTt (min g MS/ mg EAG)	t/TFTt (min g MS/ mg EQ)	t/TFTt (min g MS/ mg EQ)
2	1,14	0,84	2,22	1,66
5	2,46	1,79	4,48	3,42
10	4,41	3,40	7,86	6,39
15	6,38	4,93	11,32	9,17
20	8,14	6,41	14,64	11,42
30	12,01	9,66	20,11	16,50
40	16,02	12,86	25,84	21,24

Les tracés de t/TPTt et de t/TFTt en fonction du temps sont représentés sur les figures III.7 et III.8.



**Figure III.7 :** Validation du modèle cinétique du second ordre de l'extraction assistée par ultrasons et conventionnelle des PT.



**Figure III.8 :** Validation du modèle cinétique du second ordre d'extraction assistée par ultrasons et conventionnelle des FT.

Les tracés de  $t/TPTt$  et de  $t/TFTt$  en fonction du temps sont des droites de coefficient de corrélation  $R^2 = 0,99$  pour les courbes obtenues des méthodes conventionnelle et ultrasons.

D'après ces résultats, on peut conclure que cette cinétique correspond bien à la cinétique d'ordre 2.

$$TPT_t = \frac{t}{\left(\frac{1}{h}\right) + \left(\frac{t}{TPT_s}\right)} \quad (III.3)$$

A partir des droites obtenues  $t/TPT$  et  $t/TFT$  en fonction du temps, nous avons déterminé les coefficients des modèles cinétique  $1/h$  et  $1/TPT_t$  ;  $1/TFT_t$ .

Les équations finales des modèles cinétiques sont :

$$TPT_{t\text{Conv}} = \frac{t}{(0,471) + (0,387*t)} ; \quad TPT_{t\text{US}} = \frac{t}{(0,205) + (0,315*t)}$$

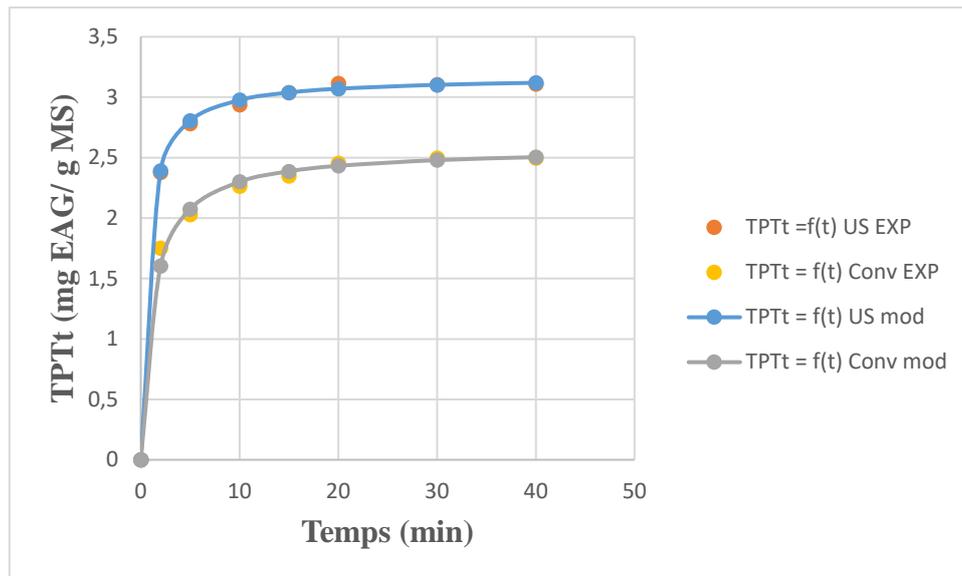
$$TFT_{t\text{Conv}} = \frac{t}{(1,571) + (0,619*t)} ; \quad TFT_{t\text{US}} = \frac{t}{(1,039) + (0,512*t)}$$

Les réponses prédites par ces modèles cinétiques sont ensuite calculées et représentées dans le tableau suivant :

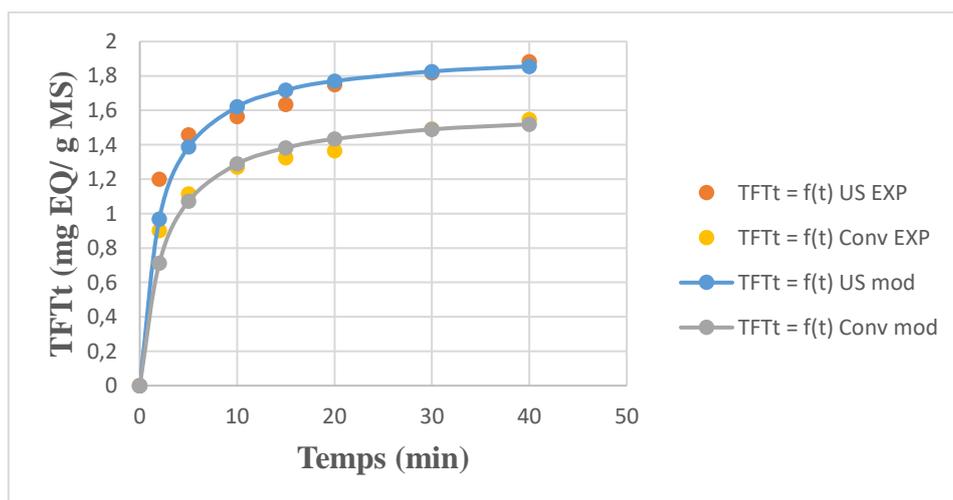
**Tableau III.10** : Les réponses prédites par les modèles cinétique.

	Teneur polyphénols totaux		Teneur flavonoïdes totaux	
	Conventionnelle	Ultrasons	Conventionnelle	Ultrasons
t (min)	TPTt <sub>Mod</sub> (mg EAG/ g MS)	TPTt <sub>Mod</sub> (mg EAG/ gMS)	TFTt <sub>Mod</sub> (mg EQ/ g MS)	TFTt <sub>Mod</sub> (mg EQ/ g MS)
0	0	0	0	0
2	1,60	2,39	0,71	0,71
5	2,07	2,8	1,07	1,07
10	2,30	2,97	1,28	1,28
15	2,38	3,03	1,38	1,38
20	2,43	3,06	1,43	1,43
30	2,47	3,10	1,48	1,48
40	2,50	3,11	1,51	1,51

Les réponses observées (Tableau III.8) et celles prédites par les modèles (tableau III.10) sont représentées par les graphes des figure III.9. et III. 10.



**Figure III.9 :** Réponses observées et réponses prédites par les modèles cinétiques des deux méthodes d'extraction conventionnelle et ultrasons des PT



**Figure III.10 :** Réponses observées et réponses prédites par les modèles cinétiques des deux méthodes d'extraction conventionnelle et ultrasons des FT.

### III.3.2. Validité du modèle cinétique

La validité du modèle cinétique est vérifiée par le calcul du coefficient de corrélation pour chaque cas.

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \hat{y})^2}{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2} \qquad K = \frac{h}{TPTt^2}$$

Avec :  $y_i$  :  $TPTt_{EXP}$ ,  $TFTt_{EXP}$

$\hat{y}$  :  $TPTt_{Mod}$ ,  $TFTt_{Mod}$

$\bar{y}$  :  $TPTt_{Moy}$  ;  $TFTt_{Moy}$

Les coefficients de corrélation des modèles sont indiqués sur le tableau III.11. Les valeurs obtenues montrent un bon ajustement entre les réponses expérimentales et les réponses prédites.

**Tableau III. 11** : Paramètres cinétiques pour le modèle cinétique du second ordre.

	Teneur polyphénols totaux		Teneur flavonoïdes totaux	
	Conventionnelle	Ultrasons	Conventionnelle	Ultrasons
1/h (g mg <sup>-1</sup> min)	0,471	0,205	1,571	1,039
h (g <sup>-1</sup> mg min <sup>-1</sup> )	2,119	4,875	0,636	0,961
1/TPTs (mg/g)	0,387	0,315	0,619	0,512
TPTs (mg/g)	2,579	3,169	1,615	1,949
K (g mg <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	0,318	0,485	0,243	0,253
R <sup>2</sup>	0,942	0,989	0,843	0,787

### III.3.3. Comparaison entre l'extraction conventionnelle et l'extraction assistée par ultrasons

Afin définir la méthode d'extraction la plus efficace parmi les deux méthodes conventionnelle et ultrasons étudiées dans ce travail, on compare les constantes de vitesses d'extraction des polyphénols et des flavonoïdes. Les résultats sont montrés sur le tableau III.11, on constate que la méthode à ultrasons améliore la vitesse d'extraction.

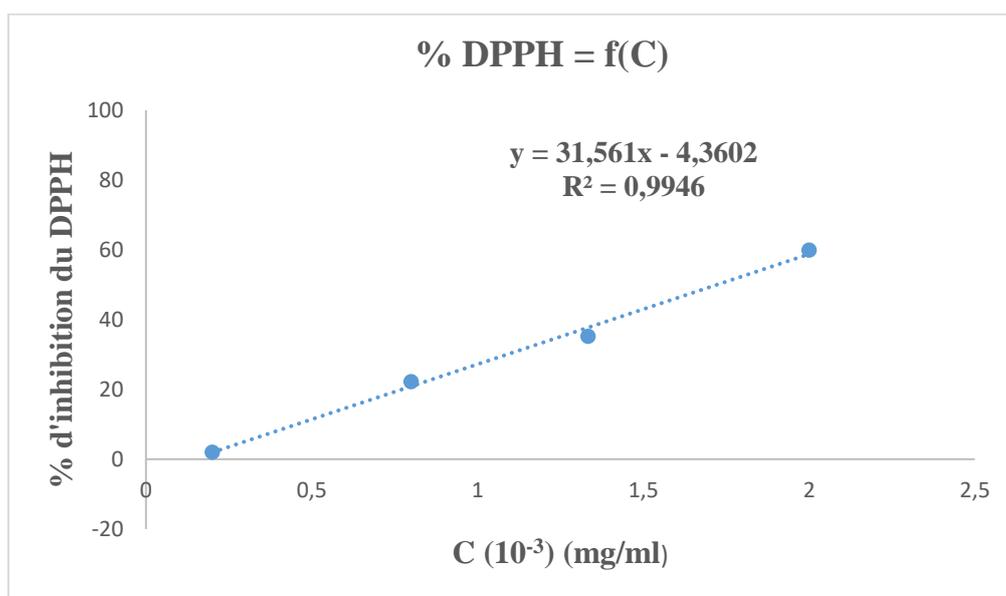
Ainsi en comparant les valeurs optimales TPTs et TFTs trouvées avec l'extraction ultrasons (TPT<sub>US</sub>=3,10 mg EAG/g MS ; TFT<sub>US</sub>=1,88 mg EQ/g MS) sont supérieure à celle trouvées par la méthode conventionnelle (TPT<sub>conv</sub>= 2,49mg EAG/g MS ; TFT<sub>conv</sub>= 1,54mgEQ/g MS). Cela peut s'expliquer par le mécanisme de destruction des tissus végétaux par les ondes ultrasonores qui à mesure que les vibrations mécaniques se propagent à l'intérieur des cellules végétales, provoquent de la compression pendant le mouvement. Par conséquent, une perturbation cellulaire efficace et un transfert de masse efficace, en tant que deux facteurs majeurs, conduisent à l'augmentation du rendement d'extraction lors de l'utilisation d'ondes ultrasonores [56].

#### III.4. Test de l'activité antioxydante au radical libre DPPH'

L'Activité antioxydante de l'extrait aqueux d'algue marine *Halopteris scoparia* est évaluée on se référant à la courbe d'étalonnage du pourcentage d'inhibition de la DPPH en fonction de la concentration d'acide gallique. Les résultats sont consignés dans le tableau III.12 et représentés sur la figure III.11.

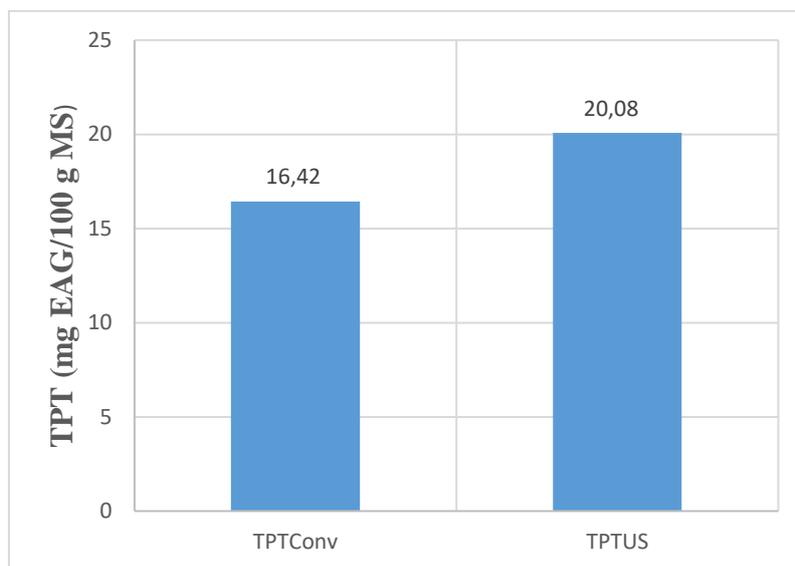
**Tableau III.12 :** Pourcentage d'inhibition de la DPPH de l'acide gallique.

% DPPH	1,99	22,22	35,18	59,91
C (10 <sup>-3</sup> ) mg/ml	0,2	0,8	1,33	2



**Figure III.11 :** Pourcentage d'inhibition de la DPPH en fonction des concentrations d'AG.

Sur la figure III. 12 sont comparées les résultats de l'activité antioxydante d'extrait aqueux obtenu par les extractions conventionnelle et ultrasons.



**Figure III.12 :** Histogramme de l'activité antioxydant d'extrait aqueux des méthodes conventionnelle et ultrasons

On remarque que l'activité antioxydante de l'extrait aqueux par la méthode ultrasons est supérieure à celle d'extrait aqueux de la méthode conventionnelle. Cela est expliqué par le fait que l'extrait aqueux obtenu par la méthode ultrasons est plus riche en PT et FT que celui obtenu par la méthode conventionnelle.

L'activité antioxydante de l'extrait aqueux conventionnelle de l'algue *Halopteris scoparia* 16.24 mg EAG/100g MG est supérieure à celle obtenus par FELLAH et al. [58] ( $11,12 \pm 0,19$  mg GAE/100g MS).

Notre extrait d'algue à la même activité antioxydant d'acide gallique préparé à 0,0006 mg/ml.

### III.5. Analyse des métaux dans l'extrait d'algue

Afin de d'évaluer la contenance en métaux de l'extrait aqueux de l'algue *Halopteris scoparia* étudiée, nous avons effectué une analyse par ICP. Les résultats obtenus indiquent une richesse en plusieurs minéraux, en particulier le Fer et le Magnésium avec des teneurs 31,75  $\mu\text{g}$  métal/ g MS et 1095,75  $\mu\text{g}$  métal/ g MS.

Les résultats obtenus de l'analyse ICP sont représentés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau III.13 :** Teneur des plantes en métaux ( $\mu\text{g}$  métal/g matière sèche).

Métaux	Cd	Co	Cu	Cr	Fe	Pb	Mn	Hg	Ni	Al	As	Ba
Teneur $\mu\text{g}$ métal/g MS	0,25	0,5	8	1	31,75	1	9,5	0,25	2	36,5	15,5	4,5

Bi	In	Li	Mg	Sr	Zn	Tl
1,5	4	1	1095,75	28,75	12,25	2,75

La présence des métaux dans l'extrait d'algue étudiée est donnée par ordre décroissant :  
 Mg > Al > Fe > Sr > As > Zn > Mn > Cu > Ba > In > Tl > Ni > Bi > (Cr, Pb, Li) > Co > (Cd, Hg).

# **Conclusion Générale**

## Conclusion générale

L'objectif de notre présent travail est d'une part l'étude la modélisation la cinétique d'extraction des polyphénols et flavonoïdes dans l'algue marine *Halopteris scoparia*, et d'autre part l'évaluation de son pouvoir antioxydant et sa teneur en métaux.

La modélisation et l'optimisation du processus d'extraction de la TPT et TFT (teneur en polyphénols et flavonoïdes totaux) a été menée en utilisant la méthodologie des plan d'expériences ; en choisissant un plan factoriel complet a deux niveaux avec la variation de trois facteur (rapport volumique, temps de contact et température d'extraction). Cette méthodologie nous a permis d'avoir deux modèles linéaires décrivant la TPT et TFT en fonction des paramètres choisis et désignant l'effet de chacun de ces derniers sur les réponses (TPT, TFT) :

$$\text{TPT} = 192,213 + 18,245 * T + 6,040 * t - 21,296 * m - 3,395 * T * m - 4,569 * T * t * m ;$$

$$\text{TFT} = 94,434 + 22,377 * T + 8,966 * t - 19,764 * m + 4,886 * T * m$$

Dans le domaine d'étude choisi, les résultats de la modélisation montrent que le rapport volumique a un effet négatif sur TPT et TFT, contrairement au temps et température d'extraction qui ont un effet positif. Les résultats de l'optimisation montrent qu'un rapport volumique de 0.1/25 mg MS/ml, un temps de 34min et une température de 77°C donne les meilleurs TPT et TFT (250.47 mg EAG/100g MS et 138.75 mg EQ/100g MS), respectivement.

Après modélisation et optimisation des paramètres influents l'extraction des PT et FT, une étude cinétique a été réalisée pour mieux comprendre l'évolution de l'extraction de ces derniers par deux méthodes d'extraction différentes : décoction (méthodes conventionnelle) et ultrasons. Les résultats de cette étude indiquent que les cinétiques d'extraction par les deux méthodes étudiés, (conventionnelle et ultrasons) peuvent être décrite par des modèles cinétiques d'ordre 2 et montrent aussi que l'extraction par ultrasons améliore aussi bien le rendement que la vitesse d'extraction comparée à l'extraction conventionnelle. ( $\text{TPT}_{\text{US}} = 3,10 \text{ mg EAG/g MS}$  contre  $\text{TPT}_{\text{conv}} = 2,49 \text{ mg EAG/g MS}$  ;  $\text{TFT}_{\text{US}} = 1,88 \text{ mg EQ/g MS}$  contre  $\text{TFT}_{\text{conv}} = 1,54 \text{ mg EQ/g MS}$ ) et ( $\text{K}_{\text{US PT}} = 0,485 \text{ g mg}^{-1} \text{ mn}^{-1}$  contre  $\text{K}_{\text{con PT}} = 0,318 \text{ g mg}^{-1} \text{ mn}^{-1}$  ;  $\text{K}_{\text{US FT}} = 0,253 \text{ g mg}^{-1} \text{ mn}^{-1}$  contre  $\text{K}_{\text{conv FT}} = 0,243 \text{ g mg}^{-1} \text{ mn}^{-1}$ ).

## Conclusion générale

L'activité antioxydante des deux extraits aqueux obtenus par l'extraction assistée par ultrasons et l'extraction conventionnelle a été évaluée par le test DPPH. Les résultats montrent que l'activité de l'extrait aqueux ultrason 20.08 mg EAG/100gMS est supérieure à l'activité antioxydante de l'extrait aqueux conventionnelle 16.42 mg EAG/100g MS.

L'analyses ICP a révélé que l'extrait aqueux de l'algue haloptris scoparia est riche en oligo-éléments tels que le Mg =1095.75  $\mu\text{g/g}$  MS et le Fe = 31.75  $\mu\text{g/g}$  MS.

# **Références bibliographiques**

## Références Bibliographiques

- [1] **Ben Abdallah R ; Jribi I ; Kolsi B ; Belghith K, Octo 20.** Caractérisation physico-chimique d'échantillons d'algues marines tunisiennes. Journal.I. M. Sfax, N°36 ; 38 - 45
- [2] **Meenakshi S ; Umayaparvathi S ; Arumugam M ; Balasubramanian T ;** In vitro antioxidant properties and FTIR analysis of two seaweeds of Gulf of Mannar. Asian Pacific Journal Tropic Biomedecine ; 1 : 66-70.
- [3] **Taboada C.M ; Millan R ; Miguez M.I, 2012.** Nutritional value of the marine algae wakame (*Undaria pinnatifada*) and nori (*Porphyra purpurea*) as food supplements. Journal of Applied Phycology, 25 : 1271-1276.
- [4] **Leclerc V ; Floc'h J-Y, 2010.** Les secrets des algues. [s.l.] : [s.n.] (Carnets de sciences, ISSN 2110-2228).
- [5] **Ramade, A, 2009.** Eléments d'écologie appliquée. Dunod, 4ème Edition Paris, France. 689pp.
- [6] **Garon-Lardiere S, 2004.** Etude structurale des polysaccharides pariétaux de l'algue rouge *Asparagopsis armata* (Bonnemaisoniales). Université De Bretagne Occidentale.
- [7] **Géraldine D ; Céline L, 2009.** Les algues, le trésor de la mer, Haute école de santé Genève.
- [8] **Ilo K ; Hori K, 1989.** Seaweed : chemical composition and potential uses. Food Review International, 5,101-144.
- [9] **Rioux L-E, 2010.** Caractérisation structurale et évaluation de l'activité biologique de polysaccharides extraits de *saccharina longicuris*. Thèse de doctorat. Université Laval, Québec.
- [10] **Nakamura T ; et al, 1996.** Antioxidant activity of phloro tannins isolated from the Brown algae *iseniacyclis*. Fish Sci 62(6) :923-6.
- [11] **CEVA, 2015.** Fiche nutritionnelle Spiruline- Centre d'Evaluation et de Valorisation des Algues [Internet]. [Cité 6 mai 2015]. Disponible sur : <http://www.ceva.fr/fre/content/download/86334/640761/file/Spiruline.pdf>

- [12] **Lakhdar, 2018.** Contribution à l'étude des potentialités antiproliférative et antibactérienne des algues brunes et rouges de la côte d'El Jadida pour une valorisation médicale et environnementale. Thèse doctorat l'université de Nantes.
- [13] **Thomas N.V ; Kim S.K, 2013.** Beneficial effects of marine algal compounds in cosmeceuticals. *Mar. Drugs*. 11 : 146-164.
- [14] **Bedoux G ; Hardouin K ; Burlot, A.S ; Bourgoignon, N., 2014.** Bioactive Components from Seaweeds : Cosmetic Applications and Future Development. *Adv. Bot. Res.* 71 : 349-382.
- [15] **Mompon B ; Lemaire B ; Mengal P ; Surbel D, 1996.** Extraction des polyphénols : du laboratoire à la production industrielle. IN « Polyphénols 96 ». *Ed INRA*. 31-35.
- [16] **He Z ; Xia W ; Chen J, 2008.** Isolation and structure elucidation of phenolics compound in Chinese olive (*Cnarium album L.*) fruit. *European Food Research and Technology*. **226**: 1191-1196.
- [17] **Richter G, 1993.** Composés phénoliques in Métabolisme des végétaux : physiologie et biochimie. *Ed Presse polytechnique et universitaire romande*. Pp : 317-339.
- [18] **Bruneton J, 1999.** Phytochimie. Plantes médicinales. Pharmacognosie. *3eme édition, Paris, France*. Pp : 125165.
- [19] **Balasundram N ; Sundram K ; Samman S, 2006.** Phenolic compounds in plants and agriindustrial by-products [9] : Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. **99** : 191–203.
- [20] **Sarni-Manchado P ; Cheynier V, 2006.** Les polyphénols en agroalimentaire. *Ed Tec et Doc Lavoisier*. Pp : 02-11.
- [21] **Bruneton J, 2008.** Acides phénols. In : Pharmacognosie, phytochimie et plantes médicinales. *Ed : Tec & Doc. Lavoisier, Paris*. Pp 198-260.
- [22] **Ghedira K, 2005.** Les flavonoïdes : structures, propriétés biologiques, rôles prophylactiques et emplois en thérapeutique. *Phytothérapie*. **04**: 162-169.
- [23] **Crozier A, 2003.** Classification and biosynthesis of secondary plant products : an overview. In *Plants' Diet and Health*". *Ed. Goldberg*. Pp : 27- 48.
- [24] **Chira K ; Such J ; Saucier C ; Teissèdre L, 2008.** Les polyphénols du raisin. *Ed : Springer*. **6** :75-82.
- [25] **Aguilera-Carbo A ; Augur C ; Prado-Barragan L.A ; Favela-Torres E ; Aguilar C.N, 2008.** Microbial production of ellagic acid and biodégradation of ellagitannins. *Applied Microbiology and Biotechnology*. **78**: 189-199.
- [26] **Paris M ; Hurabeillen M, 1981.** Abrégé de Matière médicale, pharmacognosie. *Ed : Masson*. 210-215.

- [27] **Linden ; Lorient D, 1994.** Pigments et arômes .In : Biochimie agro-industrielle valorisation alimentaire de la production agricole. *Ed : Masson.* 338-340.
- [28] **Cemeli E ; Baumgartner A ; Anderson D, 2009.** Antioxydants and the Comet assay. *Mutation Research.* 681: 51–67.
- [29] **Pereira D.M ; Valentão P ; Pereira J.A ; Andrade P.B, 2009.** Phenolics : From Chemistry to Biology. *Molecules.* 14: 2202-2211.
- [30] **Handa S.S, 2008.** An Overview of Extraction Techniques for Medicinal and Aromatic Plants. *In : Handa S.S., Khanuja S.P.S., Longo G. & Rakesh D. D. Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants. International Centre for Science and High Technology, Trieste, Italy.* 260p.
- [31] **Benzeggouta N, 2015.** Evaluation des Effets Biologiques des Extraits Aqueux de Plantes Médicinales Seules et Combinées. Thèse de doctorat. Université *Mentouri-Constantine.*
- [32] **Oucif H, 2018.** Valorisation des algues de la côté Ouest algérienne : potentiel antioxydant et hormonal. Thèse de doctorat. Université Oran 1.
- [33] **Pétrier C ; Gondrexon N ; Boldo P, 2008.** Ultrasons et sono chimie. *Techniques de l'ingénieur AF6310.* 1-14.
- [34] **Chemat F, 2009.** Essential oils : green extraction and applications. *Handbook New Delhi Inde.*
- [35] **Chemat F ; Tomao V ; Virost M, 2008.** Ultrasound-assisted extraction in food analysis. *Handbook of Food analysis Instruments.* 85-103.
- [36] M. Le moniteur de l'internet. Tome 1 2005. Toxicologie Sciences Mathématiques, Physiques et chimiques. Ed : Wolters Kluwer.
- [37] **Giasson R, 2009.** Cours de chimie de l'université de Montréal. Spectroscopie infrarouge. <http://www.chimie.umontreal.ca/CHM1312/partie2.pdf>.
- [38] **Lafont R, 2009.** Université Pierre et Marie Curie - UFR de Biologie, Méthodes physiques de séparation et d'analyse et méthodes de dosage des biomolécules C-Techniques spectroscopiques. <http://www.snv.jussieu.fr/bmedia/lafont/spectro/C1.html>.
- [39] **Carlos diaz rosad J 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.
- [40] **Centre d'experts en analyse environnementale du Québec, 2003.** « 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.

- [41] **Ecole des Mines de Saint-Etienne, 2013.** « Méthodes spectrométriques d'analyse et de caractérisation Axe « génie des procédés centre SPIN ».
- [42] **Rhazi N, 2015.** Mise au point de mélanges collants écologiques d'Acacia mollissima du Maroc. Thèse doctorat.
- [43] **Goupy J, 2006.** Introduction aux Plans d'Expérience, 3<sup>ème</sup> Edition Dunod. Paris.
- [44] **Yahiaoui I ; Aissani-Benissad ; 2010.** Experimental design for copper cementation process in fixed bed reactor using two-level factorial design. Arab. J. Chem., 3, 187-190.
- [45] **Rabier F, 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.
- [46] **Yahiaoui I, 2015.** Les plans d'expériences Initiation à la construction et l'analyse des plans factoriels complets à deux niveaux et du plan composite centré.
- [47] **Ozil P, 2007.** Plans d'expériences : Méthode de Taguchi. Ecole National Supérieure d'électrochimie et d'électrometallurgie, INPGrenoble - France.
- [48] **Yahiaoui I ; Aissani-Benissad F ; Fourcade F ; Amrane A, 2012.** Response surface methodology for the optimization of the electrochemical degradation of phenol on Pb/PbO<sub>2</sub> electrode. Environmental Progress & Sustainable Energy, 31 515-523.
- [49] **Goupy J, 2006.** Factoriel experimental design. Detecting an outlier with the dynamic variable and the daniel's diagram chemometrics and intelligent laboratory systems, 80 156-166.
- [50] **Singleton V.L ; Rossi J.A, 1965.** Colorimetry of total phenolics with phospho molybdic phospho tungstic acid reagents. American Journal of Enology and Viticulture, 16 : 144-158.
- [51] **Boizot N ; Charpentier J.P, 2006.** Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. Le cahier des techniques de l'Inra, 79-82.
- [52] **Achat S 2013.** Polyphénols de l'alimentation : Extraction, pouvoir antioxydant et interaction avec des ions métalliques. Thèse de doctorat. Université A. MIRA – Bejaia.
- [53] **Bahorun T ; Grinier B ; Trotin F ; Brunet G ; Pin T ; Luncky M ; Vasseur J ; cazin M ; Cazin C ; Pinkas M, 1996.** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. Arzneimittel-Forschung, 46(11) :1086-1089.
- [54] **Lazar L ; Talmaciu I.A, Irina Volf I ; Valentin I. Popa, 2016.** Kinetic modeling of the ultrasound-assisted extraction of polyphenols from Picea abies bark. Journal homepage : [www.elsevier.com/locate/ultson](http://www.elsevier.com/locate/ultson).

- [55] **Yahiaoui M, 2019.** Contribution à l'étude électrochimique de quelques Composés organiques dérivés d'hydrazines Synthèse et caractérisation. Thèse de doctorat. Université Mostaganem.
- [56] **Jovanovic A-A ; Đorđević V-B ; Zdunic G-M ; Pljevljakušić D-S ; Šavikin K-P ; Godevac D-M ; Bugarski B-M, 2017.** Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat- and ultrasound-assisted techniques. Journal homepage : [www.elsevier.com/locate/seppur](http://www.elsevier.com/locate/seppur).
- [57] **Campos A-M ; Matos J ; Cl- Audia A ; Gomes R ; Narcisa M ; Bandarra & Cardoso C, 2018.** Azorean macroalgae (*Petalonia binghamiae*, *Halopteris scoparia* and *Osmundea pinnatifida*) bioprospection : a study of fatty acid profiles and bioactivity.
- [58] **Fellah F ; Louaileche H ; Dehbi-Zebboudj A ; Touati N, 2017.** Seasonal variations in the phenolic compound content and antioxidant activities of three selected species of seaweeds from Tiskerth islet, Bejaia, Algeria.

## **Résumé**

L'objectif de cette étude consiste à la modélisation du procédé d'extraction d'une algue marine « algue brune » par la décoction en utilisant les plans d'expériences. Cette méthode nous a permis de déterminer l'influence de trois facteurs d'extraction sur les teneurs en polyphénols totaux et flavonoïdes totaux. Une étude cinétique a été effectuée pour les méthodes d'extractions conventionnelle et ultrasons. La composition antioxydante d'extrait d'algue, ainsi la teneur en métaux ont été évaluées par les méthodes du radical libre DPPH et la spectroscopie ICP, respectivement.

**Mot clé :** algue, décoction, polyphénols totaux, flavonoïdes totaux, cinétique, composition antioxydante, ICP.

## **Abstract**

The objective of this study is to model the extraction process of a seaweed "brown algae" by decoction using experimental plans. This method allowed us to determine the influence of three extraction factors on the contents of total polyphenols and total flavonoids. A kinetic study was carried out for the conventional and ultrasonic extraction methods. The antioxidant composition of seaweed extract, as well as the metal content were evaluated by the methods of free radical DPPH and ICP spectroscopy, respectively.

**Key word:** seaweed, decoction, total polyphenols, total flavonoids, kinetics, antioxidant composition, ICP.