

Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie  
Département des Sciences Alimentaires  
Filière : Sciences Biologiques  
Spécialité : Sciences Alimentaires  
Option : Bioprocédés et Technologie Alimentaire



Réf :.....

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

**MASTER**

*Thème*

**Effet de la cuisson sur la composition phénolique et  
l'activité antioxydante de *Cynara cardunculus*  
(le cardon) : Optimisation par les plans d'expérience**

Présenté par :

**ABBACHE Meriam & ALILAT Lilia**

Soutenu le : **21 Juin 2017**

Devant le jury composé de :

M<sup>me</sup> HAMRI. S

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

M<sup>elle</sup> GUEMGHAR. M

M<sup>me</sup> MEKHOUKHE. A

MCA

MCA

Doctorante

MAA

Présidente

Promotrice

Co promotrice

Examinatrice

**Année universitaire : 2016 / 2017**

# *Remerciements*



**Au** terme de ce travail, nos sincères remerciements et notre profonde gratitude sont adressées à :

**M<sup>me</sup>** Hamri Sabrina qui nous a fait l'honneur de présider notre jury.

**M<sup>me</sup>** Mekhoukhe Aida d'avoir accepté d'examiner notre travail.

**Nous** souhaitons également exprimer notre reconnaissance à notre promotrice M<sup>me</sup> Boulekbache Lila et notre Co-promotrice Guemghar Menana pour leurs disponibilité, conseils et leurs patience.

**M<sup>me</sup>** Guemghar hayate pour son aide et sa gentillesse.

**Nous** tenons à remercier toute l'équipe de laboratoire de BBBS en particulier les doctorantes Khoukha et Ferial et les ingénieurs Sonia et Nabila.

**A** toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire

Meriam & Lilia

# Dédicaces



Je dédie ce travail à mes parents qui se sont sacrifiés tous au long de leur vie pour m'offrir le confort et le climat adéquat à mon épanouissement. Merci pour votre soutien et votre amour, c'est grâce à vous que nous sommes les personnes qu'on est devenu.

**A** mes frères : Toufik, Nadjib et Hocine qui m'ont appris à me battre pour mes idées et encourager à aller au bout de mes rêves, même les plus fous.

**A** mes belles sœurs que j'adore : Nafissa, Nahla et Nawel.

**Mes** neveux : Yani, Aksil, Racim, Kenzy, Rachid et ma chouchoute Anaïs que j'aime à l'infini.

**A** Fawzi qui me soutient et m'encourage dans tout ce que j'entreprends, à ces précieux conseils et au réconfort qu'il m'apporte.

**A** ma jumelle d'âme la plus douce, gentille et aimable des meilleures amies, Ouahiba et à toute sa famille en particulier Nawel et tata Hayet.

**A** ma binôme Meriam qui a été parfaite et que j'adore et à toutes sa famille.

**A** tous mes amis et camarades de la promotion 2017 en particulier Fatima, Hamida.

*Lilia*

# Dédicaces



Je dédie ce travail à mes très chers parents pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur soutien et leurs prières qu'ils me portent depuis mon enfance.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

**A** ma grand-mère que j'adore, puisse Dieu lui prêter longue vie et beaucoup de santé.

**A** mes chers et adorables frères pour leur appui et leur encouragement, Athmane, Massinissa et Khelaf à qui je souhaite la réussite.

**A** mes deux sœurs bien aimées Thinhinane qui rend la vie meilleure et Louiza, la source de tous mes espoirs qui est toujours près de moi et qui n'a jamais cessé de me soutenir et m'encourager et son mari Sofiane, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu vous garde.

**A** mon précieux oncle Mouhend et sa femme Nabila que j'adore et ces deux filles Thanina et Thiziri que j'aime à l'infini.

**A** ma binôme Lilia que j'adore, avec qui j'ai partagé mes meilleurs moments et sa famille.

**A** mes très chères amies Fatma, Hamida et Fatima : merci pour les moments agréables que nous avons passés ensemble.

**A** toute ma promotion BTA 2016/2017.

**A** tous ceux qui m'aime.

*Meriam*

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ANOVA</b>	: Analysis of variance
<b>BBD</b>	: Box-Behnken Design
<b>CPT</b>	: Composées Phénoliques Totaux
<b>DPPH</b>	: 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
<b>EAG</b>	: Equivalent Acide Gallique
<b>EQ</b>	: Equivalent Quercitrine
<b>HPLC-MS</b>	: High-Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
<b>MANOVA</b>	: Multivariate analysis of variance
<b>MAE</b>	: Extraction Assisté par Micro-onde.
<b>MF</b>	: Matière Fraiche
<b>RMN</b>	: Résonance Magnétique Nucléaire
<b>RSM</b>	: Méthodologie de surface de réponse

## LISTE DES FIGURES :

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
01	Photographie d'un champ de cardon	03
02	Morphologie du cardon	04
03	Les différentes classes de polyphénols	06
04	Schéma d'un four à micro-onde	08
05	Illustration du plan Box-Behnken pour trois facteurs	11
06	Cardon préparé et découpé	16
07	Détermination de la teneur en eau de <i>Cynara cardunculus</i>	16
08	Détermination de la teneur en cendre du cardon dans un four à moufle	17
09	Cuisson du cardon	20
10	Extraction par MAE des composés phénolique de <i>Cynara cardunculus</i>	21
11	Réaction d'une structure polyphenolique avec le radicale DPPH	23
12	Humidité du cardon	25
13	Teneur en cendre de <i>Cynara cardunculus</i>	26
14	Plan de prédiction réelle	31
15	Surface de réponse pour l'interaction puissance-temps d'irradiation.	33
16	Surface de réponse pour l'interaction puissance d'irradiation-ratio.	34
17	Surface de réponse pour l'interaction temps d'irradiation-ratio.	35
18	Pouvoir réducteur en fonction des concentrations du cardon cru, cuit et de l'eau de cuisson.	38
19	Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations du cardon cru, cuit et de l'eau de cuisson.	39

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
I	Classification de <i>Cynara cardunculus</i>	03
II	Composition du cardon cru	05
III	Les niveaux des facteurs codés pour un plan Box-Behnken à trois facteurs	12
IV	Conditions d'extraction utilisées dans l'étude préliminaire	18
V	Niveaux des paramètres choisis	19
VI	Matrice d'expérimentation	19
VII	Résultats de l'étude préliminaire de l'extraction assistée par microonde	29
VIII	Valeurs expérimentales et prédites du plan BBD	30
IX	Analyse de la variance du plan Box-Behnken étudié	31
X	Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.	32
XI	Conditions optimales d'extraction des CPT par MAE (mg EAG/100g <sub>MF</sub> )	35
XII	La teneur en polyphénols des extraits	36
XIII	Teneur en flavonoïdes du cardon cru et cuit.	37

## LISTE DES ANNEXES :

<b>Annexe</b>	<b>Titre</b>
I	Les différentes classes de polyphénols
II	Préparation de quelques réactifs
III	Courbes d'étalonnages utilisées
IV	Choix des paramètres durant l'étude préliminaire
V	Courbes représentant les absorbances du pouvoir réducteur en fonction des concentrations $\mu\text{g EAG/ml}$
VI	Courbes représentant le Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations $\mu\text{g EAG/ml}$
VII	Résultats de dosage des antioxydants
VIII	La corrélation des antioxydants

# Sommaire

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des annexes

Introduction.....1

## *Synthèse bibliographique*

### Chapitre 1 : Généralités sur le cardon

I.	Origine .....	3
II.	Position systématique de <i>Cynara cardunculus</i> .....	3
III.	Description botanique de <i>Cynara cardunculus</i> .....	4
IV.	Composition chimique et valeurs nutritionnelles.....	5
V.	Propriétés biologiques de <i>Cynara cardunculus</i> .....	6

### Chapitre 2 : Extraction par micro-ondes

I.	Principe de l'extraction par Micro-ondes.....	7
II.	Facteurs influençant l'extraction par micro-ondes.....	7
II.1.	Nature et volume du solvant.....	7
II.2.	Temps d'extraction.....	7
II.3.	Puissance d'irradiation.....	8
II.4.	Nature de la matrice.....	8
III.	Instrumentation.....	8
IV.	Avantages et inconvénients.....	9

### Chapitre 3 : Les plans d'expérience

I.	Principe.....	10
II.	Terminologie.....	10
III.	Plans de surface de réponse (RSM).....	10

III.1.	Les plans Box-Behnken (BBD).....	11
III.2.	Quelques applications des plans Box-Behnken.....	12

## **Chapitre 4 : Effet de la cuisson sur la qualité des aliments**

I.	Définition de la cuisson.....	13
II.	Impacts de la cuisson sur les aliments.....	13
II.1.	Impact nutritionnel.....	13
II.1.1.	Impact de la cuisson sur les antioxydants.....	13
II.2.	Impact sanitaire.....	14
II.3.	Impact organoleptique.....	15

## *Partie expérimentale*

### **Chapitre 5 : Matériels et méthodes**

I.	Matériel végétal.....	16
II.	Détermination des paramètres physico-chimiques du carbon.....	16
II.1.	Détermination de la teneur en eau.....	16
II.2.	Détermination de la teneur en cendres.....	17
III.	Optimisation des conditions d'extraction.....	18
III.1.	Etude préliminaire.....	18
III.2.	Application de Box-Behnken Design.....	18
IV.	Préparation de l'échantillon.....	20
IV.1.	Extraction des composés phénoliques par micro-ondes .....	20
IV.2.	Dosage des antioxydants.....	21
IV.2.1.	Composés phénoliques.....	21
IV.2.2.	Dosage des flavonoïdes.....	22
IV.3.	Détermination de l'activité antioxydante.....	22
IV.3.1.	Pouvoir réducteur.....	22
IV.3.2.	Pouvoir anti radicalaire du DPPH° .....	23
V.	Analyse statistique.....	24

## Chapitre 6 : Résultats et discussion

<b>I.</b> Détermination des paramètres physico-chimique du carbon.....	25
<b>I.1.</b> Teneur en eau.....	25
<b>I.2.</b> Teneur en cendres.....	25
<b>II.</b> Optimisation des conditions d'extraction.....	26
<b>II.1.</b> Etude préliminaire.....	26
<b>II.2.</b> Plan d'expérience.....	30
<b>II.2.1.</b> Analyse des variances .....	30
<b>II.2.2.</b> Analyse du modèle mathématique.....	32
<b>II.2.3.</b> Analyse des surfaces de réponse.....	33
<b>II.2.4.</b> Paramètres optimaux.....	35
<b>III.</b> Dosage des antioxydants .....	36
<b>IV.</b> Détermination de l'activité antioxydante.....	38
Conclusion .....	41
Références bibliographiques	
Annexes	

# **Introduction**

A l'heure actuelle, les nutritionnistes et autres professionnels de la santé ne cessent d'invoquer l'importance d'une alimentation équilibrée. Cet effet est relié à une alimentation abondante en fruits et légumes. L'effet préventif des légumes résulte de la présence entre autre d'un cocktail d'antioxydants tels que les composés phénoliques (Astier et al ., 1986).

Ces dernières années ont vu un débordement d'information sur le stress oxydatif dans le déclenchement de certaines maladies graves (cancers, maladie cardio-vasculaire...etc.) et l'action thérapeutique de ces composés phénoliques sur ces pathologies. Ces composés connaissent un intérêt croissant pour des applications dans les industries agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique (Evans ., 2007 ; Hussain et al ., 2011 ; Leandro et al ., 2012).

La quantité et la qualité des polyphénols dans les végétaux peuvent varier sensiblement en fonction des différents facteurs. Une série de facteurs est liée à la culture et la génétique des plantes, aux pratiques agricoles, à la fertilité du sol, aux conditions climatiques, à la présence de ravageurs et les moyens de lutte contre eux. Une autre série de facteurs prennent leurs origines au moment où la plante quitte la ferme ou elle a été cultivée et est acheminée vers le consommateur. Les facteurs liés à la conservation et à la préparation des aliments ont également une incidence importante sur le taux de ces substances (Charles et al ., 2005).

Les composés phénoliques peuvent être isolés facilement à partir d'un tissu végétal par la méthode d'extraction mais cette procédure est influencée par plusieurs paramètres tels que : la nature chimique de ces composés, la méthode d'extraction utilisée, la dimension des particules d'échantillon et le temps d'extraction. Une autre difficulté à prendre en considération est la susceptibilité des polyphénols à l'oxydation. Chaque matériel végétal a ses propriétés spécifiques en termes d'extraction de ces composés (Telli et al ., 2010).

Notre étude porte sur un végétal Méditerranéen très réputé en Algérie, *Cynara cardunculus* plus communément connu sous le nom de cardon qui est un légume vert de la famille des Astéracées dont les vertus sont indéniables, consommé uniquement à l'état cuit, cuisson à l'eau, cette dernière peut affecter positivement ou négativement sa composition phénolique.

Afin de tirer bénéfice et pour une meilleure valorisation et l'étude de l'impact de la cuisson sur le cardon, une bonne maîtrise des conditions d'extraction des polyphénols existants dans le cardon s'avère nécessaire. L'objectif de la présente étude consiste à évaluer

l'effet de la cuisson sur la composition phénolique et l'activité antioxydante du cardon après optimisation de l'extraction des polyphénols par une méthode alternative qui est l'extraction par micro-ondes en appliquant le model de plan d'expérience Box-Behnken.

# **Synthèse**

# **Bibliographique**

# **Chapitre 1 :**

# **Généralités sur le**

# **cardon**

## I. Origine

*Cynara cardunculus* communément appelée cardon, carde ou chardon ; est une plante herbacée bisannuelle de la famille des Astéracées, cultivée comme plante potagère consommée comme légume, elle est très voisine de l'artichaut, qui fut parfois classé dans une espèce différente (*Cynara scolymus*), mais qui est considéré comme une forme de *Cynara cardunculus* L. subsp. *Carduculus* et du genre *Cynara*. Il existe deux espèces de *Cardunculus* (cardon) et *Colymus* (artichaut) (Koubaa et Damak ., 2003).

Bien que son origine soit réellement inconnue, le cardon (un des plus anciens légumes) est généralement censé être originaire du bassin Méditerranéen (Koubaa et Damak ., 2003).



**Figure 01** : Photographie d'un champ de cardon

## II. Position systématique de *Cynara cardunculus*

Le nom du genre cardon a été adopté par Linné, il vient du mot Grec « kynara », il est attribué à diverses plantes épineuses. Le tableau I représente la classification du cardon.

**Tableau I** : Classification de *Cynara cardunculus*

<b>Régne</b>	<b>Plantae</b>
<b>Division</b>	Magnoliophyta
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Ordre</b>	Asterales
<b>Famille</b>	Asteraceae
<b>Genre</b>	<i>Cynara</i>

### III. Description botanique de *Cynara cardunculus*

Le cardon se développe en rosette, puis émet une tige principale épaisse et rameuse qui peut atteindre de 1,50 à 2 m de haut portant à ses extrémités des capitules terminales. Les feuilles sont alternes, très grandes et longues, aux bords dentés et épineux, profondément divisées en lobes aigus, de couleur vert argenté ou gris-vert. Grandes inflorescences sphériques solitaires ou en corymbes, ses fleurs, bleu violacé, sont solitaires, dépassant souvent 6 cm de diamètre, elles sont réunies en capitules qui apparaissent à partir de la deuxième année, qui sont également comestibles. Le cardon présente un système racinaire pivotant très profond, qui lui confère une bonne résistance à la sécheresse et à des froids non sèbres. Les graines sont des akènes oblongs surmontés d'une aigrette plumeuse qui se séparent facilement. Dans le commerce des graines, il existe deux variétés de cardon : l'une inerme et l'autre épineuse, seule la variété à épines est cultivée pour son goût typique de cardon (Ozenda ., 1983 ; Brickell ., 2004 ; Djerroumi et al ., 2004).



**Figure 02 :** Morphologie du cardon([https://www.google.dz/image/Cynara cardunculus](https://www.google.dz/image/Cynara%20cardunculus))

#### IV. Composition chimique et valeurs nutritionnelles

Le cardon est un légume d'hiver qui renferme un cocktail de minéraux et d'oligo-éléments, il apporte aussi une dose de vitamines dont la vitamine C et la vitamine B (Tableau II).

**Tableau II** : Composition du cardon cru (FAVIER et al ., 1995)

Composants (g)		Minéraux (mg)		Vitamines	
<b>Eau</b>	<b>92.7</b>	<b>Na</b>	<b>23</b>	<b>Equ.β- Carotène (µg)</b>	<b>Traces</b>
<b>Protéines</b>	<b>0.8</b>	<b>Mg</b>	<b>32</b>	<b>C</b>	<b>4</b>
<b>Glucides disponibles</b>	<b>2.2</b>	<b>P</b>	<b>23</b>	<b>Niacine (mg)</b>	<b>0.3</b>
- <b>Sucre</b>	<b>1.9</b>				
- <b>Amidon</b>	<b>0.3</b>				
<b>Fibres</b>	<b>2</b>	<b>K</b>	<b>400</b>	<b>B6</b>	<b>0.05</b>
<b>Lipides</b>	<b>0.1</b>	<b>Ca</b>	<b>70</b>	<b>Folates (µg)</b>	<b>34</b>
<b>Energie (Kcal)</b>	<b>13</b>	<b>Fe</b>	<b>0.7</b>	<b>Proportion comestible</b>	<b>0.6</b>

Cette espèce renferme aussi dans ses feuilles et ses graines :

- Des polyphénols : les dérivés caféïques (cynarine et acide chlorogénique) ;
- Des flavonoïdes (surtout des flavones) ;
- Des tannins, des anthocyanes et coumarines ;
- Des stéroïdes (stérols, sesquiterpénoides et des saponines) ;
- Un principe amer (cynaropicrine) et un sucre (inuline) ;
- Des lignanes (Valentao et al ., 2002 ; Koubaa et al ., 2003 ; Wang et al ., 2003 ; Pinelli et al ., 2007).

Toutes les études réalisées sur le cardon ont porté sur l'identification de ses métabolites secondaires et éventuellement tester leurs utilisations biopharmaceutiques comme l'activité antioxydante, antimicrobienne et antiviral (Paris et al ., 1971 ; Convoitise ., 1983 ; Koubaa et al ., 1999 ; Sianina et al ., 2001 ; Valentao et al ., 2002).

En effet, les composées phénoliques sont des métabolites secondaires caractérisés par la présence d'un cycle aromatique portant des groupements hydroxyles libres ou liés aux glucides. Des études récentes ont montré que plus le contenu en polyphénols était important, plus grande était la capacité totale de ces aliments (Ou et al ., 2002 ; Stratil et al ., 2006).

## **V. Propriétés biologiques de *Cynara cardunculus***

Le cardon est un légume à nombreuses vertus qu'elles soient diététique ou médicale. Le cardon est un très bon allié des régimes amaigrissants du fait qu'il soit très peu calorique soit 13 calories par 100 g, contient de l'inuline qui est un sucre assimilable pour les personnes diabétiques et de la cynarine, qui est un dépurateur du foie, qui améliore la fonction hépatique de la vésicule biliaire et abaisse le taux de cholestérol dans le sang. Sa richesse en fibres et en mucilage, lui confère des propriétés bienfaitantes pour la régulation du transit intestinal, une teneur importante en minéraux et oligo-éléments (magnésium, calcium, fer, sélénium, zinc, et surtout en potassium) qui favoriseraient le maintien de l'équilibre de la pression artérielle.

**Chapitre 2 :**  
**Extraction par**  
**micro-ondes**

## **I. Principe de l'extraction par micro-ondes**

Le magnétron est le type de générateurs d'ondes le plus répandu qui transforme l'électricité en un rayonnement micro-ondes de nature électromagnétique (Kingston ., 1997 ; Oudot ., 1999 ; Thostenson ., 1999 ; Datta ., 2001).

Ces micro-ondes pénètrent dans la matrice végétale et réagissent avec les molécules polaires comme l'eau, ayant pour résultat un chauffage interne de la matière biologique et par conséquent l'augmentation de la pression intérieure des cellules ; cette dernière provoque la coupure des parois cellulaires ainsi qu'un dégagement des analytes (Luque de Castro et al ., 2011 ; Michel et al ., 2011 ; Ahmad et al ., 2012).

## **II. Facteurs influençant l'extraction par micro-ondes**

L'efficacité de l'extraction par solvant assistée par micro-ondes (MAE), repose fortement sur le choix des conditions de fonctionnement et les paramètres affectant le mécanisme d'extraction, il existe cinq facteurs majeurs qui peuvent avoir une influence importante sur le rendement d'extraction et la qualité de l'extrait (Mandal et al ., 2010 ; Chan et al ., 2011).

### **II.1. Nature et volume du solvant**

Le choix du solvant dans la MAE est fondamental pour obtenir un processus d'extraction optimal. Comme pour les autres techniques d'extraction ce choix est déterminé par la solubilité des molécules d'intérêt et par les interactions solvant/matrice. Cependant, en MAE le choix du solvant est surtout relié à sa capacité à absorber les micro-ondes. Le volume du solvant doit être suffisant pour que la matrice reste immergée pendant la durée de l'extraction. Les ratios optimums liquide/solide, les plus souvent utilisés sont généralement situés entre 10:1 et 50:1 (ml/mg) (Thomas ., 2012).

### **II.2. Temps d'extraction**

Pour la majorité des matrices étudiées, le paramètre le plus valorisable est incontestablement le temps d'extraction, c'est l'un des avantages de la MAE car il est généralement court : quelques secondes à quelques minutes. La vitesse de l'extraction paraît être le principal atout dans l'extraction des composés phénoliques, en raison de la rapidité du procédé, et de l'augmentation de la sélectivité de l'extraction par rapport à la méthode conventionnelle (Lucchesie et al ., 2004). De plus il a été démontré que des temps plus longs

d'extraction n'amélioreraient pas forcément le rendement d'extraction, et qu'ils induisaient des risques plus élevés de dégradation de molécules thermolabiles (Thomas ., 2012).

### II.3. Puissance d'irradiation

La puissance d'irradiation est choisie en fonction de la température et du temps d'extraction appliqués, elle doit être correctement choisie pour éviter une température excessive qui pourrait mener à la dégradation des composés recherchés. Elle est généralement minimisée pour éviter d'atteindre des températures d'extraction trop élevées et à l'inverse, augmentée pour diminuer le temps d'extraction (Thomas ., 2012).

### II.4. Nature de la matrice

La teneur en eau de la matrice a une grande importance dans le processus d'extraction, car les molécules d'eau, qui ont une forte capacité à absorber les micro-ondes, jouent un rôle important dans le processus d'échauffement. En conséquence, l'obtention de résultats reproductibles exige le contrôle préalable de la teneur en eau de la matrice à extraire (Thomas ., 2012).

## III. Instrumentation

Le développement rapide dans les processus MAE a incité divers fournisseurs à fournir des systèmes améliorés et des instruments connexes pour le processus d'extraction.

La plupart des extracteurs à micro-ondes disponibles sont construits aux laboratoires sur la base d'un micro-ondes domestique.

La majorité des micro-ondes commerciales sont équipés d'un système de contrôle de la température avec des systèmes de surveillance et de contrôle de la pression (Chan et al ., 2011).

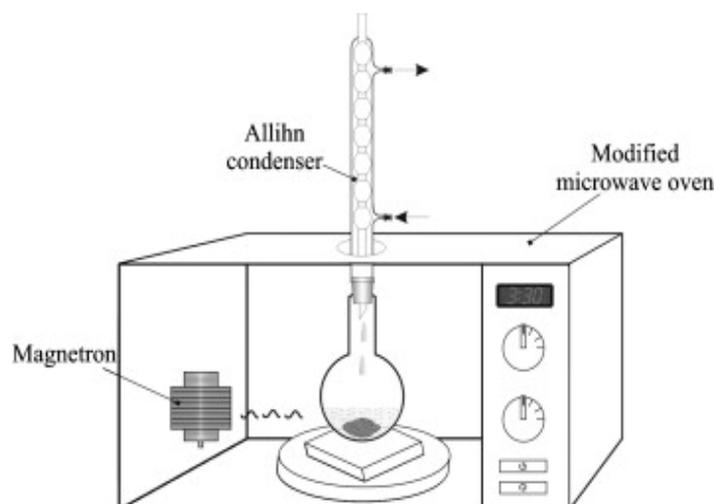


Figure 04 : Schéma d'un four à micro-ondes

#### **IV. Avantages et inconvénients des micro-ondes**

L'extraction assistée par micro-ondes (MAE) est reconnue comme une technique d'extraction polyvalente et efficace pour les métabolites secondaires des matrices végétales notamment les antioxydants, elle exige moins de solvant et permet d'obtenir un meilleur rendement par rapport aux méthodes classiques d'extraction (Zhang et al ., 2011). La MAE montre des avantages évidents avec un temps d'extraction plus court, une grande sélectivité, elle est considérée comme une technique prometteuse pour l'extraction en raison de l'utilisation des différents phénomènes physique et chimique comparés aux extractions conventionnelles, elle est simple d'utilisation et peu onéreuse (Veggi, et al ., 2013).

Néanmoins cette technique nécessite une étape de filtration et/ou centrifugation pour éliminer les particules solides après l'extraction. Par ailleurs, de faibles rendements d'extraction peuvent être obtenus lorsque des solvants apolaires ou volatils sont utilisés (Sparr Eskilsson et al ., 2000 ; Wang et al ., 2006).

# **Chapitre 3 :**

## **Les plans d'expérience**

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt « y » (réponse) et des variables «  $x_i$  » (facteurs) (Goupy ., 2006). Avec les plans d'expériences une meilleure précision avec le minimum d'essais et de coût sont obtenus (Goupy et Creighton ., 2006).

## I. Principe

Il consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou de plusieurs facteurs, qui sont les variables, discrètes ou continues, à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés (Goupy et Creighton ., 2006) et en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse (Faucher ., 2006).

## II. Terminologie

- **Réponse** : grandeur physique étudiée (Vivier ., 2002).
- **Facteurs** : variables qui peuvent modifier la réponse (Goupy et Creighton ., 2006).
- **Niveau d'un facteur** : valeur donnée à un facteur pour réaliser une expérience (Goupy et Creighton ., 2006).
- **Domaine d'étude** : Domaine expérimental délimité par les niveaux inférieurs et supérieurs des facteurs étudiés (Chaabouni et al ., 2011).
- **Matrice d'expérience** : indique les niveaux pris par les variables codées aux différentes expériences (Chaabouni et al ., 2011).

## III. Plans de surface de réponse (RSM)

La méthode des surfaces de réponse (RSM) est une technique d'analyse statistique puissante, ces plans sont les plus employées car ils permettent le criblage des facteurs et conduisent à des modélisations simples des processus complexes ou la réponse est influencée par plusieurs variables et dont l'objectif est d'optimiser cette réponse (Goupy et Creighton ., 2006).

Ces plans utilisent des modèles polyniaux de second degré dont les trois plus importants plans de ce type sont : les plans hybrides, les plans Box-Behnken et les plans de Doelhart. Le modèle mathématique postulé utilisé avec les plans pour surface de réponse est un modèle de second degré avec interaction d'ordre 2 (Raissi et Farsani., 2009) :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} x_i^2 + \sum_{i=1}^k \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

$y$ : est la réponse (la grandeur d'intérêt).

$x_i, x_j$ : sont les variables.

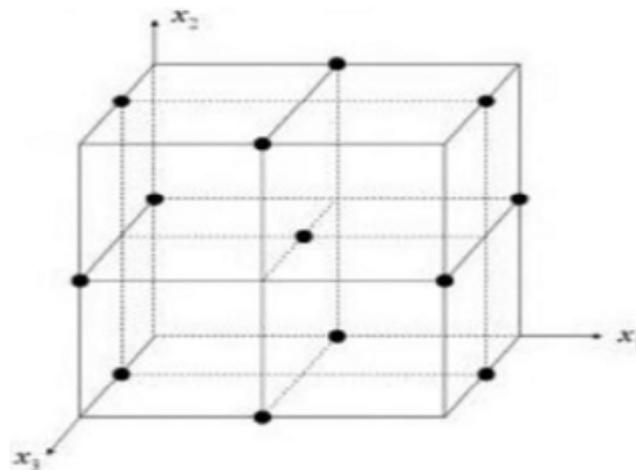
$\beta_0, \beta_i, \beta_j, \beta_{ii}$ : sont les coefficients de polynôme.

$\varepsilon$ : est l'erreur aléatoire.

### III.1 Les plans Box-Behnken (BBD)

Box et Behnken ont proposé en 1960 des plans qui permettent d'établir directement des modèles de second degré. Ce sont des structures symétriques dans lesquelles chaque facteur prend trois niveaux (Chagnon ., 2005).

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs est construit sur un cube. Pour quatre facteurs, ce plan est construit sur un hypercube à quatre dimensions. Les points expérimentaux ne sont pas placés aux sommets du cube ou de l'hypercube, mais au milieu des arêtes ou au centre des faces (carrés) ou au centre des cubes. Cette disposition a pour conséquence de répartir tous les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, donc sur une sphère ou sur une hypersphère suivant le nombre de dimensions. Des points, sont ajoutés au centre du domaine d'étude (Goupy et Creighton ., 2006).



**Figure 05** : Illustration du plan Box-Behnken pour trois facteurs (Lawson ., 2010).

Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs, est un cube possédant 12 arêtes à qui sont ajoutés, habituellement trois points d'expériences, au centre du domaine d'étude. Le plan de Box-Behnken pour trois facteurs possède donc 15 essais (Tableau III) (Goupy et Creighton ., 2006).

**Tableau III** : Les niveaux des facteurs codés pour un plan Box-Behnken à trois facteurs (Ferreira et al ., 2007)

Expériences	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>
1	-1	0	1
2	0	-1	1
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	-1	-1	0
7	0	1	-1
8	1	-1	0
9	1	0	1
10	0	-1	-1
11	0	1	1
12	1	1	0
13	-1	1	0
14	1	0	-1
15	-1	0	-1

### III.2. Quelques applications des plans Box-Behnken

- Optimisation des processus de sorption, exemple : Yetilmezsoy et ses collaborateurs ont optimisé l'élimination du Pb de l'eau par les coques de pistache.
- Optimisation des méthodes chromatographiques, exemple : optimisation de l'extraction par chromatographie en phase supercritique des flavonoïdes à partir du Kouzou (*Pueraria lobata*) (Wang et al ., 2008).

**Chapitre 4 :**  
**Effet de la cuisson sur**  
**la qualité des**  
**aliments**

## **I. Définition de la cuisson**

La cuisson est une opération qui consiste à chauffer un aliment pendant un certain temps et dans un environnement bien défini (Bimbenet et al ., 2002). C'est une étape essentielle dans la préparation des aliments. Elle permet non seulement de consommer certains produits indigestes et de mauvaise qualité gustative, mais améliore aussi leur qualité bactériologique. C'est en outre une étape qui contribue à la dégradation des produits et s'accompagne souvent d'une perte de minéraux (Turkmen et al ., 2005).

## **II. Impacts de la cuisson sur les aliments**

La cuisson a des impacts variés dont l'importance respective diffère suivant le type d'aliment et le type de cuisson. Ils sont répartis en trois groupes principaux : nutritionnel, sanitaire et organoleptique.

### **II.1. Impact nutritionnel**

La cuisson des légumes permet d'améliorer la digestibilité en modifiant la structure des fibres alimentaires. Cependant, elle entraîne aussi une diminution plus ou moins marquée de la valeur nutritionnelle, soit par diffusion de constituants hydrosolubles dans l'eau de cuisson, soit par destruction de substances thermolabiles et/ou oxydables. Les pertes sont en général plus élevées pour les légumes-feuilles que pour les racines et tubercules. Elles augmentent avec le volume d'eau utilisé et la durée de la cuisson (Causeret ., 1986). D'autre part, la cuisson permet de réduire l'impact des facteurs antinutritionnels qui empêchent l'assimilation des nutriments (Rocca-Poliméni ., 2007).

#### **II.1.1. Impact de la cuisson sur les antioxydants**

La cuisson ménagère entraîne des modifications du profil nutritionnel des végétaux frais. En effet, l'effet de la chaleur, ainsi que les interactions entre le produit et le milieu de cuisson entraînent une destruction des vitamines, des pertes minérales et un ramollissement des fibres. La cuisson provoque une modification de la structure des polyphénols et une diminution globale de ces substances dans les fruits et légumes. Les pertes sont très variables selon le mode de cuisson et la substance étudiée, elles peuvent atteindre 60% (Liegeois ., 2001).

- **Effet sur les composés phénoliques totaux**

La cuisson ou l'exposition à de fortes températures provoquent une diminution de la teneur en polyphénols totaux de la plupart des fruits et légumes (Ngho Newilah ., 2005). D'après les études de Mazzeo et al ., 2011, l'effet positif du blanchiment sur les composés phénoliques de plusieurs légumes a été confirmé, ceci peut être dû à l'inactivation des enzymes responsables de l'oxydation des polyphénols (polyphénol oxydase). La pasteurisation est un traitement thermique court, avec un effet modéré sur les antioxydants (Johnson et al ., 2003). Roy et al . (2007) ont rapporté que la cuisson de certains légumes à une température de 100°C (10 à 30 min) affecte leur teneur en composés phénoliques et leur activité antioxydante. Cependant, un chauffage modéré (50°C pendant 10 à 30 min) préserve 80-100% de polyphénols et de leur activité antioxydante.

- **Effet sur les flavonoïdes**

Les données relatives à l'effet de la cuisson sur les flavonoïdes restent controversées, certaines ont rapporté l'absence de différence significative, et d'autres ont constaté des pertes très variables (Terry ., 2011).

Lors de la cuisson, les pertes en flavonoïdes dépendent de leur nature chimique. Selon Olivera et al . (2008), l'augmentation de la teneur en flavonoïdes dans les extraits du chou de Bruxelles après blanchiment est liée à la perte de l'intégrité des tissus, des cellules, des membranes et des organites après traitement thermique. Plusieurs auteurs ont observé une augmentation de la teneur en composés phénoliques après un blanchiment.

## **II.2. Impact sanitaire**

La cuisson, par action de la température, contribue souvent à rendre les aliments plus sains. En effet, la cuisson entraîne la destruction totale ou partielle de la flore thermosensible et l'élimination de nombreuses toxines (Dupin ., 1992). Néanmoins, la cuisson peut aussi avoir un effet néfaste, particulièrement avec la création de molécules cancérigènes, d'autant plus générées lorsque la température de cuisson est élevée (Sugimura ., 2002). Ce sont souvent les réactions de Maillard qui sont responsables de leur apparition.

### II.3. Impact organoleptique

Les caractéristiques organoleptiques d'un aliment peuvent être divisées en trois grandes catégories :

L'apparence, liée aux propriétés visuelles ; au cours de la cuisson, l'apparence de l'aliment est modifiée (forme et couleur), ces modifications sont dues à des réactions chimiques accélérées par la chaleur de la cuisson.

La flaveur, liée à la perception sensorielle globale, c'est-à-dire à la fois au sens du goût et de l'odorat mais aussi du toucher, de la température et autres sensations provoquées lors de l'appréciation d'un aliment (Moulton ., 1982). C'est le résultat de plusieurs réactions physico-chimiques qui sont soit des synthèses, soit des dégradations de molécules.

La texture, liée à des sensations tactiles principalement, même si la vue et l'ouïe peuvent participer à la reconnaissance textuelle. La texture est toujours liée à la microstructure de l'aliment, parmi ces constituants, plusieurs ont une importance particulière dans l'appréciation de la texture. L'état de turgescence de la vacuole, liée à la pression osmotique, la quantité et la taille des méats, la taille des parois composées de cellulose et de polysaccharides, la qualité de la lamelle moyenne qui compose la couche externe de la paroi associée à des substances pectiques et la composition du cytoplasme (plus ou moins riche en lipide, en protéine ou en amidon) (Moulton ., 1982).

# **Partie expérimentale**

# **Matériels et méthodes**

## I. Matériel végétal

Le cardon a été procuré du marché local de la ville de Bejaia au mois de février 2017. Les parties non comestibles (les feuilles) ont été retirées manuellement à l'aide d'un couteau et les parties comestibles (les côtes) ont été soigneusement lavées à l'eau du robinet afin d'éliminer toutes les impuretés, rincées avec de l'eau distillée et séchées avec du papier absorbant. Les côtes ainsi propres et nettoyées ont été découpées en morceaux puis recouvertes de papier aluminium et conservées dans une boîte au frais.



**Figure 06 :** Cardon préparé et découpé

## II. Détermination des paramètres physico-chimiques du cardon

### II.1. Détermination de la teneur en eau

Afin de déterminer la teneur en eau, 10 g de cardon sont pesés dans une capsule sur une balance puis une dessiccation a été réalisée dans une étuve portée à une température de  $103 \pm 2 \text{ } ^\circ\text{C}$  pendant 4 heures (Doymaz et al ., 2004).



**Figure 07 :** Détermination de la teneur en eau de *Cynara cardunculus*

Les résultats ont été exprimés en pourcentage selon la formule suivante :

$$H\% = [(M_1 - M_2) / P] \cdot 100$$

**M<sub>1</sub>** : Masse de la capsule + masse de la matière fraîche (g) ;

**M<sub>2</sub>** : Masse de la capsule + masse de la matière sèche (g) ;

**P** : Masse de la prise d'essai (g).

**H%**: Pourcentage d'humidité

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - H\%$$

## II.2. Détermination de la teneur en cendre

2 g de carbon sont mis dans des creusets puis placés dans un four à moufle réglé à 550°C ± 15°C pendant 5h jusqu'à obtention des cendres de couleur grise, claire ou blanchâtre (Afnor ., 1982).



**Figure 08** : Détermination de la teneur en cendre du carbon dans un four à moufle

Les creusets sont pesés après refroidissement et la matière organique est calculée par la formule suivante :

$$M_0 \% = [(M_1 - M_2) \cdot 100] / P$$

**M<sub>0</sub>** : Matière organique en (%) ;

**M<sub>1</sub>** : Masse des creusets + la masse de la prise d'essai ;

**P** : La masse de la prise d'essai.

La teneur en cendres (Cd) est calculée comme suit :

$$Cd = 100 - M_0 \%$$

### III. Optimisation des conditions d'extraction

#### III.1. Etude préliminaire

Avant de procéder à l'optimisation, une étude préliminaire a été réalisée afin de pouvoir sélectionner les conditions optimales d'extraction des composés phénoliques.

Cette étape a été faite en fixant tous les paramètres et n'en faire varier qu'un seul. L'effet de chaque paramètre est évalué par la détermination de la teneur en polyphénols totaux. Les résultats obtenus sont utilisés dans le but d'optimiser les conditions d'extraction à l'aide de la méthodologie de la surface de réponse (RSM).

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

Type solvant	Concentration du solvant % (v/v)	Temps d'irradiation (mn)	Puissance d'irradiation(w)	Ratio solvant/solide (mg/ml)
<b>Ethanol</b>	20	2	100	20
<b>Méthanol</b>	40	3	300	30
<b>Acétone</b>	50	4	500	40
<b>Eau distillé</b>	60	5	700	50
	80	6	900	60
		7		

#### III.2. Application de Box-Behnken Design

L'optimisation de la méthode d'extraction est réalisée en utilisant le plan BBD avec trois niveaux (-1, 0, +1). Cette conception a été employée afin d'évaluer les paramètres les plus significatifs sur l'extraction (Destandau et al ., 2011), et de trouver les conditions d'extraction optimales. Afin d'évaluer les meilleures conditions pour l'extraction des polyphénols totaux, trois variables ont été choisies comme pertinentes : la puissance, le temps d'extraction, et le ratio (solvant/solide), respectivement désignées par X1, X2 et X3 (Tableau V).

**Tableau V** : Niveaux des paramètres choisis

	<b>-1</b>	<b>0</b>	<b>+1</b>
<b>X1 (w)</b>	500	700	900
<b>X2 (mn)</b>	4	5	6
<b>X3 (ml)</b>	40	50	60

Les niveaux bas, moyen et haut de chaque variable sont désignés par -1, 0 et +1, respectivement (Tableau VI).

**Tableau VI** : Matrice d'expérimentation

	<b>Puissance d'extraction (w)</b>	<b>Temps (mn)</b>	<b>Ratio (ml)</b>
<b>1</b>	700	5	50
<b>2</b>	700	4	40
<b>3</b>	900	5	40
<b>4</b>	700	4	60
<b>5</b>	700	5	50
<b>6</b>	900	4	50
<b>7</b>	500	6	50
<b>8</b>	900	5	60
<b>9</b>	700	6	40
<b>10</b>	500	4	50
<b>11</b>	900	6	50
<b>12</b>	700	6	60
<b>13</b>	500	5	60
<b>14</b>	500	5	40
<b>15</b>	700	5	50

## IV. Préparation de l'échantillon

Le but de la présente étude est de déterminer l'effet de la cuisson sur la composition phénolique du cardon. Pour cela, 15g de l'échantillon découpé ont été mis dans un bécher contenant 100 ml d'eau du robinet et portés sur une plaque chauffante.

Après la cuisson, le contenu du bécher a été filtré, les échantillons cuits ainsi que l'eau de cuisson ont été refroidis à température ambiante puis conservés à 4°C, pour servir à des analyses ultérieures.

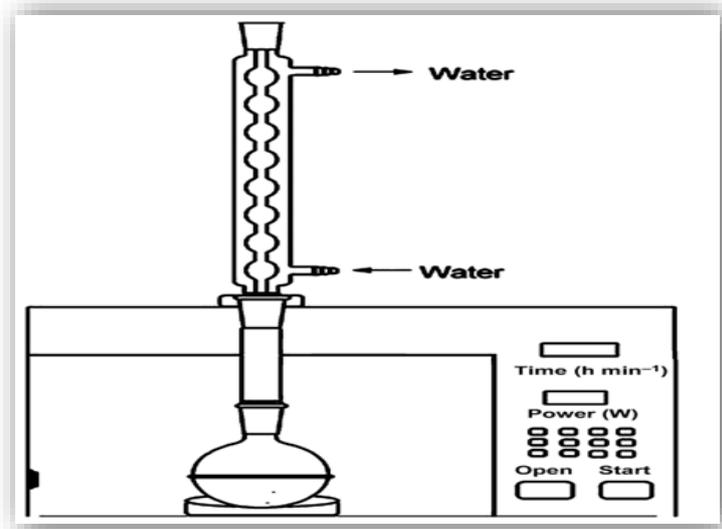
Cette opération a été effectuée afin d'évaluer la teneur en composés phénoliques de l'échantillon cuit et celle de l'eau de cuisson de *C. cardunculus* et de les comparer à celle de l'échantillon frais.



**Figure 09** : Cuisson du cardon

### IV.1. Extraction des composés phénoliques par micro-ondes

Dans un ballon d'extraction, 15g de cardon (frais et cuit) finement coupé est mélangé avec un volume de solvant. Le mélange est placé dans un micro-ondes, par la suite, les extraits obtenus sont soumis à une filtration à l'aide de papier filtre.



**Figure 10 :** Extraction par MAE des composés phénolique de *Cynara cardunculus*

## IV.2. Dosage des antioxydants

### IV.2.1. Les composés phénoliques

La réaction est basée sur la réduction du mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique du réactif de Folin-Ciocalteu, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxyde bleue de tungstène et d'oxyde de molybdène. La présence de carbonate de sodium rend le milieu légèrement alcalin (Vermerris et al ., 2008). Après l'addition du réactif de Folin-Ciocalteu et de carbonate, une couleur bleue est obtenue dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en composés phénoliques.

La teneur en composés phénoliques totaux des extraits de *Cynara cardunculus* est estimée selon la méthode décrite par Georgé et al . (2005).

### Mode opératoire

250  $\mu$ l de l'extrait sont additionnés de 1,25 ml du réactif de Folin-Ciocalteu (dilué dix fois) qu'on laisse agir deux min à température ambiante, on ajoute 1 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) 7,5% , après agitation et incubation dans le bain marie pendant 15 min à 50° C, la solution est directement plongée dans un bain de glace. La lecture des absorbances a été effectuée à 760 nm et la concentration des polyphénols totaux est calculée en utilisant une

courbe d'étalonnage, établie avec de l'acide gallique. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de matière fraîche (mg E.A.G/100 g MF).

#### **IV.2.2. Dosage des flavonoïdes**

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

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

#### **Mode opératoire**

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

La concentration en flavonoïdes est calculée en utilisant une courbe d'étalonnage établie avec la quercétine, les résultats sont exprimés en mg équivalent quercétine par 100 g de matière fraîche (mg E.Q/100g de MF).

#### **IV.3. Détermination de l'activité antioxydante**

L'activité antioxydante des extraits est déterminée selon deux méthodes ; la première est l'estimation du pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques par différents tests dont la réduction du chlorure ferrique. La deuxième évalue le pouvoir anti radicalaire en mesurant le pourcentage de neutralisation du radical DPPH.

##### **IV.3.1. Pouvoir réducteur**

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique  $Fe^{3+}$  du complexe ferricyanure [ $FeCl_3/K_3Fe(CN)_6$ ] en fer ferreux  $Fe^{2+}$ , la forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur des extraits (Bourgou et al ., 2008).

#### **Mode opératoire**

La réduction du chlorure ferrique  $FeCl_3$  des extraits de *Cynara cardunculus* est déterminée selon la méthode décrite par Khaled-khoudja et al ., 2014. 0,5 ml d'extrait sont

ajoutés à 1,25 ml de tampon phosphate (pH=6,6) et 1,25ml de ferricyanure de potassium (1%). Après incubation à 50°C durant 20 min dans un bain marie, 1,25ml d'acide trichloracétique (10%) sont rajoutés. 1,25 ml du mélange préalablement préparé auquel sont rajoutés 1,25 ml d'eau distillée et 250 µl de chlorure ferrique (0,1%). L'absorbance est mesurée à 700 nm. Les résultats sont exprimés en µg E.A.G/100g de MF.

#### IV.3.2. Pouvoir anti radicalaire du DPPH°

Le composé chimique 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle ( $\alpha,\alpha$ -diphényl- $\beta$ -picrylhydrazyle) fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques. Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote. Du fait de cette délocalisation, les molécules du radical ne forment pas des dimères, le DPPH• reste dans sa forme monomère relativement stable à température ordinaire. La délocalisation provoque aussi la couleur mauve bien caractéristique de la solution de DPPH•. L'évaluation de l'efficacité d'un antioxydant se fait en mesurant la diminution de la coloration bleue, due à une recombinaison des radicaux DPPH•, mesurable par spectrophotométrie à 515-518 nm. Le piégeage des radicaux libres par les composés phénoliques, se fait par le transfert de l'atome H sur le DPPH• alors transformé en une molécule stable DPPH-H (Popovici et al ., 2009).

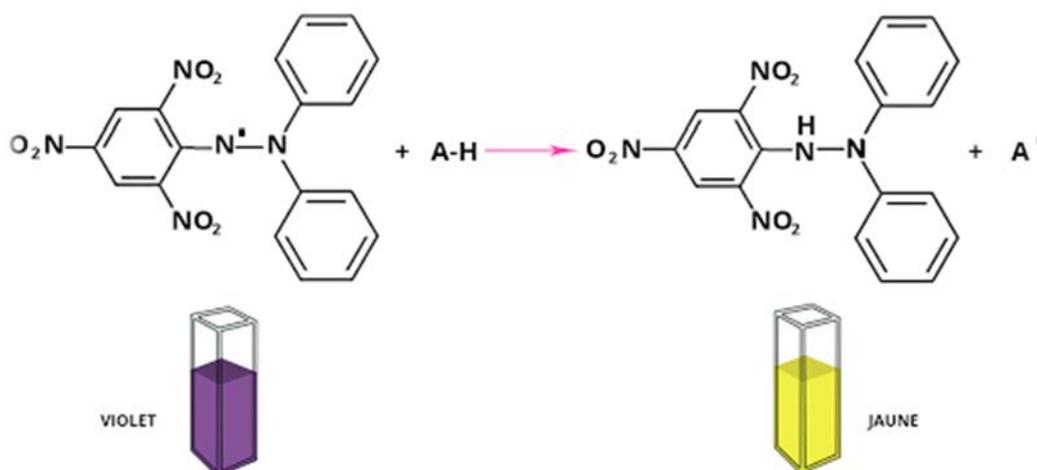


Figure 11 : Réaction d'une structure polyphénolique avec le radicale DPPH

### Mode opératoire

A 50 µl de l'extrait sont rajoutés 2 ml de DPPH. Après incubation de 30 min à l'abri de la lumière, l'absorbance est mesurée à 517 nm (Brand-williams et al ., 1994). Un contrôle sans extrait a été préparé dans les mêmes conditions. Le pouvoir anti radicalaire de l'extrait est exprimé en pourcentage d'inhibition du radical DPPH par rapport à un contrôle :

$$PI\% = (Abs_{\text{contrôle}} - Abs_{\text{extrait}} / Abs_{\text{contrôle}}) \times 100$$

**PI%** : Pourcentage d'inhibition

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

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

Les résultats sont exprimés en IC50 µg/ml (concentration en antioxydant nécessaire pour réduire de 50 % la concentration initiale en DPPH°).

### V. Analyse statistique

Les résultats sont analysés par STATISTICA, basé sur l'analyse de la variance (ANOVA-MANOVA, Tukey, différence significative  $\alpha=0,05$ ). D'autres parts, les résultats expérimentaux du plan d'expérience de Box-Benhken Design sont analysés par le logiciel JMP 7. Le calcul des concentrations, des moyennes, écart-types et corrélation a été réalisé par Excel.

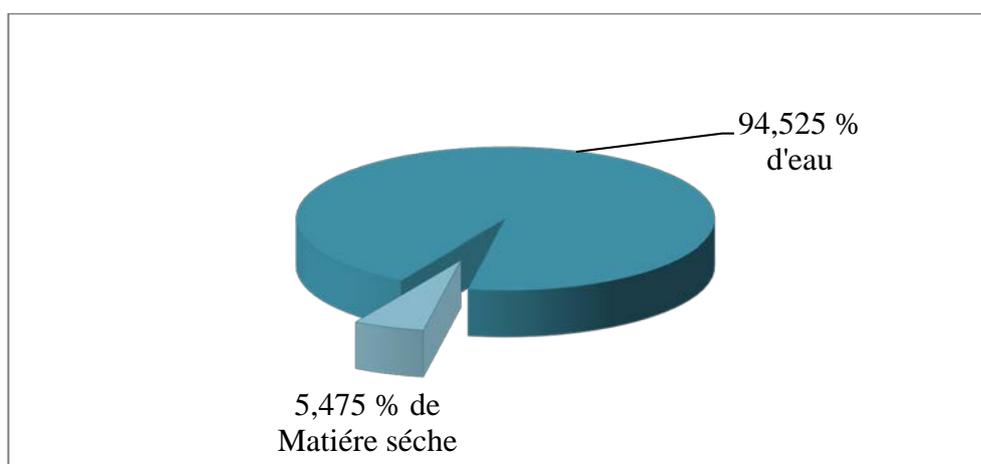
# **Résultats et discussion**

## I. Détermination des paramètres physico-chimique du cardon

### I.1. Teneur en eau

Les végétaux sont riches en eau, les plantes fraîches et leurs fruits renferment 60 à 90% d'eau, ce qui peut favoriser une activité enzymatique qui entrainera rapidement une réaction irréversible sur les antioxydants après la collecte du matériel végétal, tels que l'oxydation et par conséquent une polymérisation ou une décomposition (Paris et Moyse ., 1965).

Le taux d'humidité de *Cynara cardunculus* est représenté dans la figure suivante :



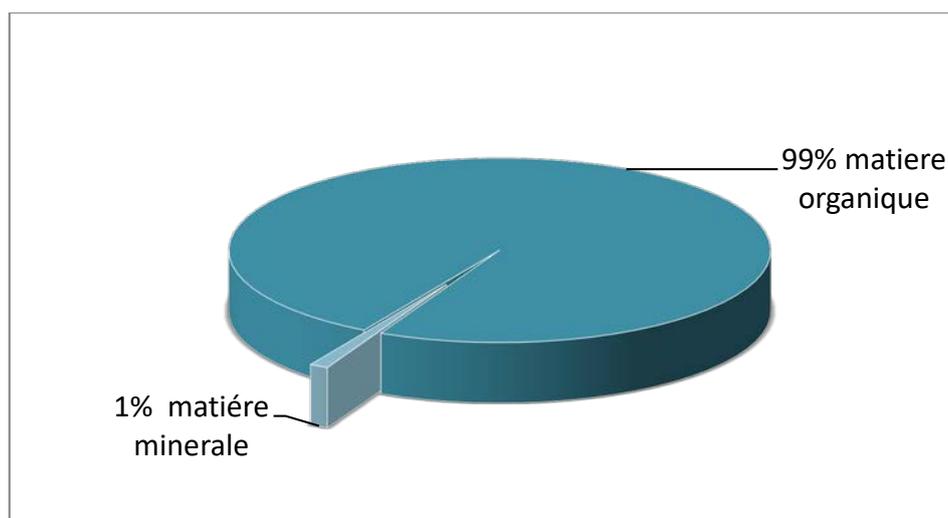
**Figure 12 :** Humidité du cardon.

D'après le résultat obtenu le taux d'humidité du cardon est de 94,52%, ce résultat est proche de celui de Favier et al. (1995) qui est de 92,7%. Ceci explique la dégradation et la décomposition rapide du cardon ; en effet, l'eau est une source de dégradation des polyphénols par le phénomène d'oxydation (Ribéreau-Gayon ., 1968).

### I.2 Teneur en cendres

La teneur en cendres est conventionnellement le résidu de l'échantillon après destruction de la matière organique par incinération (Audigie et al ., 1982).

Les résidus obtenus après calcination sont des poudres grises, claires et légères, la figure 13 montre la teneur en matière minérale et en matière organique.



**Figure 13 :** Teneur en cendres de *Cynara cardunculus*

D'après les résultats obtenus le taux de cendres de *Cynara cardunculus* est de 1%, aucune étude n'a été rapportée sur la composition en cendres de l'échantillon étudié.

## II. Optimisation des conditions d'extraction

### II.1. Etude préliminaire

L'extraction est l'une des étapes cruciales pour la recherche et l'étude des métabolites secondaires des plantes. En général, l'efficacité de l'extraction des composés phénoliques est influencée par de multiples paramètres. Il fallait donc, étudier les paramètres d'extraction afin de déterminer les meilleures conditions qui permettent d'avoir les meilleurs rendements.

Une étude préliminaire a été réalisée afin de déterminer les gammes expérimentales appropriées à prendre en compte lors du processus d'optimisation. Dans cette étude, l'effet de plusieurs paramètres d'extraction influent ; la puissance et le temps d'irradiation, le type de solvant, le rapport solvant-solide ont été systématiquement étudiés séparément pour obtenir le rendement en CPT maximal. Les résultats obtenus sont présentés dans le tableau VII.

#### • Type de solvant

L'extraction des composés phénoliques à partir de matrices végétales peut être effectuée en utilisant des solvants organiques (vermerris et al ., 2006). L'efficacité de l'extraction est directement liée à la compatibilité entre les composés phénoliques et le solvant utilisé, ainsi lorsque la polarité des composés est adaptée avec celle du solvant, ils seront facilement extraits. En général, le choix du solvant tient compte non seulement de son affinité avec le composé cible, mais aussi de sa capacité à absorber l'énergie des micro-ondes. Les substances phénoliques des plantes sont généralement extraites en utilisant des solvants

organiques aqueux tels que le méthanol, l'éthanol, l'acétone et l'acétate d'éthyle (Proestos et al ., 2008). Les solvants étudiés (eau, éthanol, acétone, méthanol) sont les solvants les plus utilisés dans l'extraction phénolique à partir de matériaux botaniques (Dahmoune et al ., 2013).

Les résultats obtenus montrent que les teneurs en polyphénols varient en fonction du solvant utilisé, et que l'éthanol est le meilleur solvant pour l'extraction des composés phénoliques. Cela peut s'expliquer par la polarité intermédiaire des composés phénoliques extraits, sachant que la polarité de l'eau, méthanol, éthanol et acétone est respectivement de : 1, 0,762 , 0,654 et 0,355, cela montre que l'éthanol a une polarité intermédiaire par rapport aux autres solvants cités, ce qui le rend plus efficace dans la dégradation des parois cellulaires dont le caractère est apolaire, ce qui permet par la suite une meilleure extraction des composés phénoliques (Uma et al ., 2010). Etant donné que la méthode d'extraction utilisée est celle assistée par micro-ondes, Hernandez et Ochoa (2005) ont démontré que l'éthanol est un bon absorbant de l'énergie des MO, pour une telle méthode d'extraction, un solvant possédant un facteur de dissipation ( $\tan\delta$ ) élevé est indispensable (Bougrin et al ., 2005), l'éthanol possède un facteur de dissipation beaucoup plus élevé que les autres solvants, il est de 0,941.

#### • Puissance du MAE

La puissance des micro-ondes a considérablement influencé le rendement de CPT dans les conditions testées (tableau VII). Le rendement maximal en CPT obtenu à différentes puissances (500 700 et 900 W) de micro-ondes n'était pas significativement différent.

Des études antérieures ont rapporté que l'effet principal des micro-ondes est dû principalement à l'effet du chauffage (Kappe et al ., 2013). Les résultats obtenus sont probablement attribués à une amélioration de la récupération des phénols sous l'action de la chaleur, avec une augmentation conséquente des phénomènes de transfert de masse.

La gamme 500-900W a été sélectionnée pour l'étude RSM, tandis que la puissance de 700 W a été utilisée pour les prochains essais à un seul facteur.

#### • Effet du ratio (solvant/solide)

Le ratio (liquide/solide) influence d'une manière significative sur l'extraction des composés phénoliques (Leandro et al ., 2012 ; Silva et al ., 2007). Conventionnellement, un meilleur volume de solvant augmente la récupération des composés phénoliques, cela est relié au potentiel d'échange entre le solide et le liquide.

Dans la présente étude, le rapport a été augmenté en gardant constant le poids solide (15 g), le volume du solvant doit être suffisant pour s'assurer que l'ensemble de l'échantillon

est immergé, en particulier lorsqu'il s'agit d'un échantillon qui gonflera pendant le processus d'extraction (Sparr Eskilsson et al ., 2000).

La gamme 40-60 ml a été sélectionnée pour l'étude RSM, tandis que le ratio de 40 ml/15 g a été choisi pour les prochains facteurs.

- **Temps d'irradiation**

Le temps d'extraction est un autre paramètre principal dans la procédure d'extraction des composés phénoliques, il peut varier de quelques minutes à 24 heures (Lapornik et al ., 2005 ; Lee et al ., 2005). Le temps d'irradiation a considérablement influencé le rendement de CPT ( $P < 0,05$ ) avec 6 et 7 min comme meilleures valeurs. Tandis que la gamme 4-6 min a été sélectionnée pour les essais de RSM.

La durée de mise en contact de l'échantillon avec le solvant apparaît comme un paramètre qui influence l'extraction des composés phénoliques (Perez ., 2008). Selon Spigno et al ., (2006), le taux d'extraction peut être amélioré en augmentant le temps de contact entre le solvant et le matériel végétal.

## II.2. Plan d'expérience

Les données expérimentales obtenues à partir des 15 essais illustrées dans le tableau VIII, ont été analysées aléatoirement à l'aide d'un plan d'expérience BBD. Les réponses mesurées sont comparées à celle prédites, afin de mesurer la validité du model choisi. Les résultats ont montré que la teneur en CPT varie entre 41,06 et 52,91 mg EAG/100 g de matière fraîche (tableau VIII), ceux-ci ne font que confirmer que les facteurs (ratio, puissance et temps d'irradiation) ont une influence sur l'extraction de ces composés. L'influence de ces facteurs a été confirmée par l'étude menée par Ballard et al ., (2010).

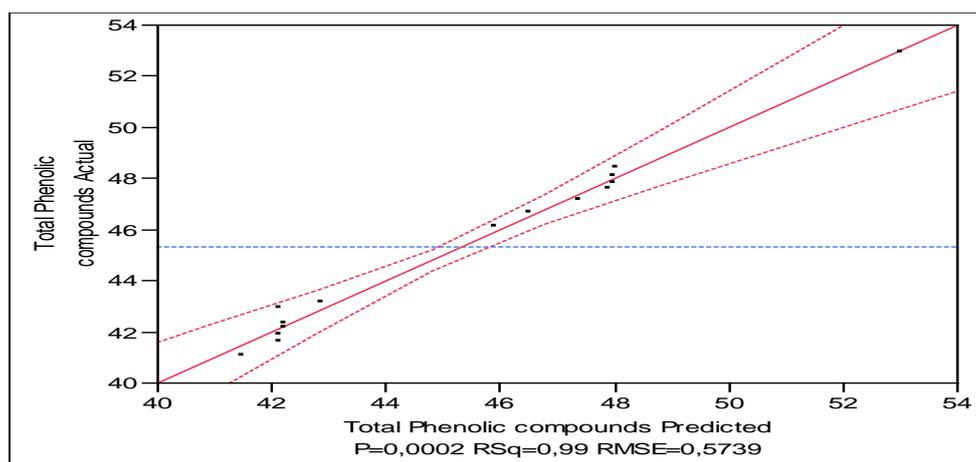
**Tableau VIII** : Valeurs expérimentales et prédites du plan BBD.

Essais	(X1) Puissance (W)	(X2) Temps (min)	(X3) Ratio (ml)	La teneur en composés phénoliques	
				Les valeurs mesurées	Les valeurs prédites
1	700	5	50	41,58	42,08
2	700	4	40	43,13	43,68
3	900	5	40	42,13	43,94
4	700	4	60	47,8	47,60
5	700	5	50	42,91	42,08
6	900	4	50	47,16	47,05
7	500	6	50	46,08	45,19
8	900	5	60	48,4	48,48
9	700	6	40	46,66	46,46
10	500	4	50	48,08	47,92
11	900	6	50	52,91	53,44
12	700	6	60	47,6	48,48
13	500	5	60	42,3	43,22
14	500	5	40	41,06	41,81
15	700	5	50	41,89	42,08

### II.2.1. Analyse des variances

- **Le coefficient de détermination ( $R^2$ )**

Dans la présente étude, le coefficient de détermination ( $R^2$ ) du model est égale à 0,99 (figure 14), ce qui signifie qu'uniquement 1% des variations ne sont pas expliquées par le model. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajustée est de l'ordre de  $R^2$  ajusté = 0,97, ce qui est assez élevé pour confirmer la haute significativité du model, sachant que le  $R^2$  représente la valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) après élimination des termes (coefficient) inutiles du model. Un modèle contenant beaucoup de termes inutiles (non significatifs) auront une valeur de  $R^2$  ajusté très inférieur à celle du  $R^2$  (El-Adawi et al ., 2011).



**Figure 14 :** Plan de prédiction réelle

### • Model global et manque d'ajustement

L'analyse de la variance de la régression du modèle (Tableau IX), montre que le modèle est très significatif ( $P < 0,005$ ), et que le défaut d'ajustement n'est pas significatif ( $P > 0,05$ ) par rapport à l'erreur pure, ce qui confirme la validation du modèle (Chin et al., 2010). Dans un modèle, si la P-value du défaut d'ajustement est significative, ce modèle sera rejeté (Granato et al., 2011).

**Tableau IX :** Analyse de la variance du plan Box-Behnken étudié.

Paramètre	Degré de liberté	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Rapport F	P-value
modèle	9	163,98758	18,2208	55,3193	0.0002
Défaut d'ajustement	3	0,6715917	0,223864	0,4591	0,7396
Erreur pure	2	0,9752889	0.487644	/	/

### • Effet des facteurs (coefficients)

Les P-value sont utilisées comme un outil pour vérifier la signification de chaque coefficient et indique également l'intensité de l'interaction entre les paramètres. Plus la valeur de P-value est petite, plus grande est la signification du coefficient correspondant (Chan et al., 2009 ; Liu et al., 2010), Les résultats du calcul des coefficients de régression estimés du modèle polynomial sont représentés dans le tableau X.

**Tableau X** : Les coefficients de régression estimés du model polynomial du second degré.

Terme	Estimation	Erreur standard	Rapport t	P-value
<b>Constante</b>	42,13	0,331349	127,15	<,0001*
<b>Linéarité</b>				
<b>X1</b>	1,6341667	0,202909	8,05	0,0005*
<b>X2</b>	0,88625	0,202909	4,37	0,0072*
<b>X3</b>	1,6379167	0,202909	8,07	0,0005*
<b>Interaction</b>				
<b>X1*X2</b>	1,9391667	0,286956	6,76	0,0011*
<b>X1*X3</b>	1,2591667	0,286956	4,39	0,0071*
<b>X2*X3</b>	-0,933333	0,286956	-3,25	0,0226*
<b>Quadratique</b>				
<b>X1*X1</b>	1,8025	0,298674	6,04	0,0018*
<b>X2*X2</b>	4,6283333	0,298674	15,50	<,0001*
<b>X3*X3</b>	-0,458333	0,298674	-1,53	0,1855

### II.2.2. Analyse du modèle mathématique

Dans l'absolu, le choix d'un plan d'expérience n'a pas de sens tant qu'il n'est pas subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Les modèles les plus classiques sont les modèles polynomiaux (le plus souvent de degré inférieur ou égale à deux) (Tinsson ., 2010). D'après les résultats de l'étude, les valeurs des coefficients significatifs et la fonction qui régit l'extraction des CPT à partir du cardon sont alors bien connues. Le modèle mathématique du BBD de la présente étude peut être représenté par la relation suivante :

$$Y = +42,13 + 1,6341667X_1 + 0,88625X_2 + 1,6379167X_3 + 1,9391667X_1X_2 + 1,2591667X_1X_3 - 0,933333X_2X_3 + 1,8025X_1^2 + 4,6283333X_2^2$$

#### • Effet linéaire

D'après les résultats de la présente étude, il existe deux facteurs qui possèdent une influence significative positive sur l'extraction des CPT du cardon qui sont : le ratio ( $X_3$ ) et la

puissance des microondes ( $X_1$ ) avec un  $P=0,0005$  suivit par le temps d'irradiation qui a un  $P=0,0072$ .

### • Effet quadratique

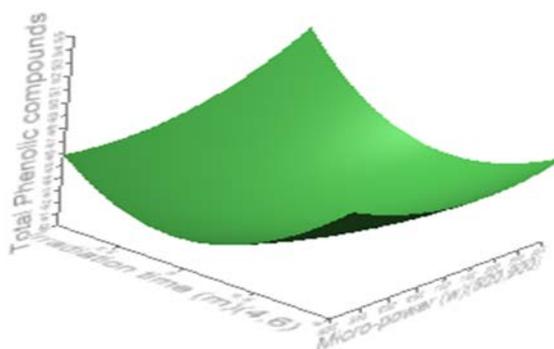
L'effet quadratique le plus prononcé est représenté par le facteur du temps d'irradiation ( $X_2X_2$ ) avec  $p<0,0001$ , il est suivi par l'effet quadratique de la puissance ( $X_1X_1$ ) avec  $P=0,0018$ , contrairement à l'effet quadratique du ratio ( $X_3X_3$ ) qui est non significatif avec  $P=0,1855$ .

## II.2.3. Analyse des surfaces de réponse

### • Temps -puissance d'irradiation

Le couple puissance -temps d'irradiation ( $X_1X_2$ ) influence d'une manière significative et joue un rôle important dans l'extraction des polyphénols avec  $P=0,0011$ .

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre la puissance d'extraction, le temps d'irradiation et le taux d'extraction des CPT sont représentés dans la figure 15.



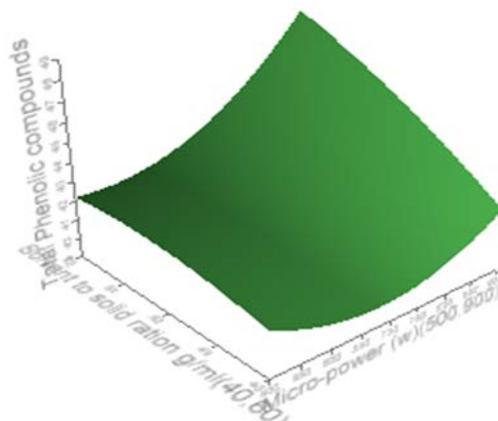
**Figure 15** : Surface de réponse pour l'interaction puissance-temps d'irradiation.

Les résultats montrent que la teneur en CPT diminue lorsque le temps varie de 4 à 4,5 min, cela peut s'expliquer par la prolongation du temps susceptible d'augmenter le risque de décomposition et d'oxydation des composés phénoliques en raison de leur longue exposition à des facteurs environnementaux défavorables ; tels que la température, la lumière et l'oxygène (Naczka et al ., 2004). La teneur en CPT augmente ensuite à partir de 4,5 min à 6 min, ce résultat pourrait s'expliquer par l'utilisation de matière fraîche au lieu de matière sèche ou à la formation de nouveaux composés ayant une forte activité antioxydante. Par contre, la teneur

en polyphénols augmente de 48,62 à 54,07 mg EAG/100 g MF si on augmente le temps et la puissance simultanément et si on fixe le ratio à 56 ml.

### • Ratio –puissance d'extraction

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre la puissance d'extraction, le ratio et le taux d'extraction des CPT sont représentés dans la figure 16.



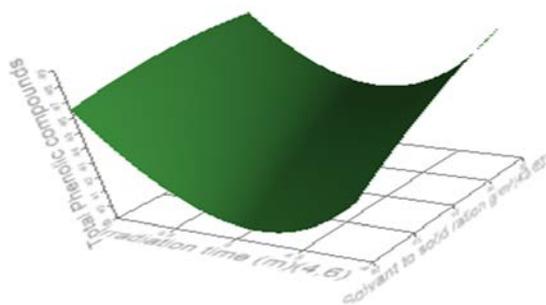
**Figure 16 :** Surface de réponse pour l'interaction puissance d'irradiation-ratio.

Les résultats obtenus montrent que le couple puissance d'irradiation et ratio ( $X_1X_3$ ) présente un effet significatif avec  $P=0,0071$ . Si on augmente la puissance et le ratio et on fixe le temps à 6 min simultanément, la teneur en CPT augmente de 45,97 à 54,07 mg EAG/100 g MF donc la puissance et le ratio augmentent proportionnellement avec le taux d'extraction des CPT.

Cette augmentation peut s'expliquer par la puissance des micro-ondes élevée, cette dernière améliore la solubilité des composés phénoliques et diminue la viscosité des extraits, accélérant ainsi la libération et la dissolution de ces composés (Kappe et al ., 2013). Cette augmentation peut s'expliquer, aussi, par l'interaction moléculaire avec le champs électromagnétique qui offre un transfert rapide de l'énergie de la matrice au solvant, ce qui permet la dissolution des composants à extraire (Duan et al ., 2001 ; Guo et al ., 2003 ; Hu ., 2003).

### • Ratio-temps d'irradiation

Les résultats obtenus de l'étude d'interaction entre le temps d'irradiation, le ratio ( $X_2X_3$ ) et le taux d'extraction des CPT sont représentés dans la figure 17.



**Figure 17 :** Surface de réponse pour l'interaction temps d'irradiation-ratio.

Les résultats obtenus montrent que le couple temps d'irradiation et ratio ( $X_2X_3$ ) présente un effet significatif avec  $P=0,0226$ . Si on fixe la puissance à 900 W et qu'on varie simultanément les deux paramètres on aura une augmentation d'extraction de polyphénols allant de 43,08 à 54,07 mg EAG/100 g MF. En effet, un ratio faible donne un faible rapport de distribution (D) d'où à l'équilibre, la quantité solvatée (polyphénols et interférents) est largement inférieure à celle restante dans la phase solide (carbon), par conséquent, le rendement d'extraction sera faible. Par contre, un ratio fort donne un coefficient plus important bien que le rendement d'extraction puisse être toujours faible car plus de liquide peut fournir plus d'oxygène dissout en provoquant l'oxydation des polyphénols, surtout pour un temps d'extraction très long et un solvant aqueux très riches en oxygène dissout, ce qui explique la signifiante des deux interactions (Shi et al ., 2003).

#### II.2.4. Paramètres optimaux

Cette étude montre qu'un modèle polynomiale d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparaît que les conditions expérimentales optimales qui conduisent à une maximisation de l'extraction des polyphénols sont obtenues au sein du domaine expérimental.

Les conditions d'extraction optimale identifiées par l'utilisation du logiciel JMP sont représentées dans le tableau XI.

**Tableau XI :** Conditions optimales d'extraction des CPT par MAE (mg EAG/100 g MF).

Puissance d'irradiation (w)	Temps d'extraction (min)	Ratio (solide/solvant) (g/ml)	Valeur prédite
900	6	56,33	54,07982±1,43

### III. Dosage des antioxydants

#### • Les polyphénols totaux

Les résultats du dosage des polyphénols totaux du cardon cru, cuit et de l'eau de cuisson sont représentés dans le tableau XII.

**Tableau XII** : La teneur en polyphénols des extraits.

Extraits	mg (E.A.G)/100 g <sub>MF</sub>
<b>Cardon cru</b>	54.76 <sup>a</sup> ± 1.62
<b>Cardon cuit</b>	38.64 <sup>b</sup> ± 0.75
<b>Eau de cuisson</b>	14.57 <sup>c</sup> ± 1.63

D'après les résultats obtenus, la teneur en CPT du cardon cru est de 54,76 mg EAG/100 g<sub>MF</sub>, cette valeur est en adéquation avec la valeur prédite par le plan d'expérience qui est de 54,07 mg EAG/100 g<sub>MF</sub>. Le taux obtenu est plus élevé que celui trouvé par Baghdad ., (2010). Ce dernier en étudiant la teneur en CPT du cardon a rapporté une valeur de 45 mg EAG/100 g.

La différence observée entre la présente étude et celle rapportée peut être attribuée à divers facteurs tel que le degré de maturité, les conditions climatiques et géographique. (Vebric et al ., 2008), le stress provoqué par les rayonnement UV, les infections par les microbes et parasites pathogènes, les blessures, la pollution de l'air ainsi que l'exposition à des températures extrêmes (Nackz et al ., 2006).

La teneur en CPT du cardon cuit et de son eau de cuisson est de 38,64 et 14.57 mg EAG/100 g<sub>MF</sub> respectivement, soit une baisse d'environ 30% par rapport au taux de CPT du cardon cru. Cette diminution s'explique par l'apparition d'une activité antioxydante dans l'eau de cuisson du cardon qui est proportionnelle à la perte observée.

Amin et al . (2006) ont constaté une diminution de la teneur en polyphénols de quatre variétés d'épinards après un blanchiment de 5 à 15 min. Cette diminution a été observée par Roy et al . (2007) après leur cuisson à 100°C pendant 10 et 30 min.

En général la cuisson ou l'exposition à de fortes températures provoque une diminution de la teneur en composés phénoliques totaux de la plupart des fruits et légumes (Zhang et al ., 2004).

Quant au taux de CPT de l'eau de cuisson, elle est probablement due à la présence de composés phénoliques et flavonoïdes solubilisés dans cette eau (Roy et al ., 2007), lors de la cuisson de l'échantillon.

### • Les flavonoïdes

Les résultats du dosage des flavonoïdes du cardon cru et cuit sont présentés dans le tableau XIII.

**Tableau XIII** : Teneur en flavonoïdes du cardon cru et cuit.

Extraits	mg (E.Q)/100 g <sub>MF</sub>
<b>Cardon cru</b>	7.59 ± 0.21
<b>Cardon cuit</b>	4.00 ± 0.07
<b>Eau de cuisson</b>	/

D'après les résultats obtenus, la teneur en flavonoïdes du cardon cru et cuit est de 7,59 et 4 mg EQ/100 g<sub>MF</sub>, respectivement. Soit une perte de pratiquement 47.29% après sa cuisson.

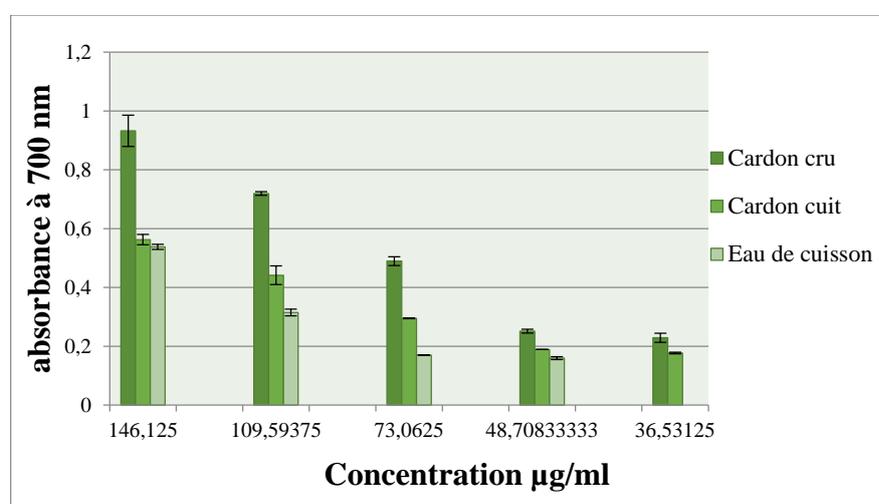
Selon Rodrigues et al ., (2009), le traitement intense aux micro-ondes provoque des pertes en flavonoïdes (quercétine) de 18% car ce mode de cuisson, selon ces auteurs, provoque la dégradation des dérivés de la quercétine. Aussi la cuisson des oignons dans l'eau bouillante a donné des effets plus remarquables, diminution de 53% suite au lessivage dans l'eau de cuisson et à la dégradation des flavonoïdes. Selon plusieurs auteurs, l'activité antioxydante peut être affectée par de nombreux facteurs. La structure des composés phénoliques, en particuliers le degré et la position des groupements hydroxyles sur le noyau aromatique de la molécule (Balasundram et al ., 2006 ; Scherer et al ., 2009), la glycosylation et la présence d'autres groupements donneurs de protons. En effet, les flavonols aglycones comme la quercétine, la myricétine et le kaempferol qui contiennent plusieurs groupements hydroxyles ont une activité antioxydante supérieure à celle de leurs dérivés glycosylés comme la rutine, la myricétine et l'astragaline (Scherer et al ., 2009).

## IV. Détermination de l'activité antioxydante

### • Pouvoir réducteur

Les résultats obtenus (figure 18), indiquent que l'absorbance augmente au fur et à mesure que la concentration des extrait s'élève, plusieurs études, ont confirmé que le pouvoir réducteur est proportionnel à la concentration des antioxydants (Elmastaşa et al ., 2006). Ces résultats peuvent être expliqués par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la réduction de Fe<sup>3+</sup> en Fe<sup>2+</sup>.

Il s'est avéré aussi que le carbon cru enregistre le pouvoir réducteur le plus élevé, suivi par le carbon cuit et enfin par l'eau de cuisson, cela est dû vraisemblablement à leurs teneurs respectives en polyphénols totaux, ceci a été confirmé après le calcul du coefficient de corrélation entre les composés phénolique et le pouvoir réducteur qui est égale à  $r = 0,84$ . En effet, de nombreux travaux attribuent le pouvoir réducteur aux composés phénoliques constituants des végétaux (Huang et al ., 2005 ; Ribeiro et al ., 2008 ; Fabri et al ., 2009 ; Li et al ., 2009).



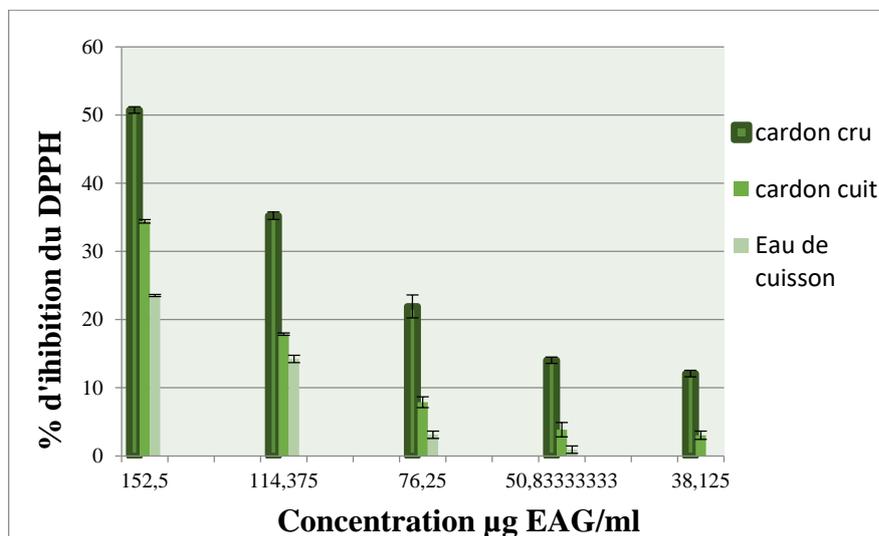
**Figure 18 :** Pouvoir réducteur en fonction des concentrations de l'extrait du carbon cru, cuit et de l'eau de cuisson.

### • Pouvoir anti radicalaire (DPPH°)

D'après les résultats obtenus (figure 19), la capacité d'inhibition du radical DPPH par les extraits issu du carbon cru, cuit et l'eau de cuisson à des concentrations respectives de

152,5 ; 91,75 et 14,75  $\mu\text{g}$  EAG/ml est de 50,73% pour le cardon cru ; 34,40% pour le cardon cuit et 23,52% pour l'eau de cuisson.

Le cardon cru a présenté une capacité d'inhibition de 50% c'est-à-dire il présente une bonne activité inhibitrice. Le résultat obtenu est similaire à celui rapporté par Kukic et al ., (2007) avec un IC50 de 157  $\mu\text{g}/\text{ml}$ .



**Figure 19 :** Pourcentage d'inhibition du DPPH en fonction des concentrations du cardon cru, cuit et de l'eau de cuisson.

Les IC50 n'ont pas été déterminées car ni le cardon cuit ni l'eau de cuisson n'ont pu atteindre un seuil d'inhibition de 50% de radicaux étant donné qu'à la plus forte concentration (solution pur), le taux d'inhibition n'a pas dépassé 34% pour le cardon cuit et 23% pour l'eau de cuisson.

Il existe une corrélation positive et linéaire ( $r = 0,97$ ) entre les teneurs en composés phénoliques des extraits (cru, cuit et eau de cuisson) et leur pouvoir anti radicalaire (Annexe). Ces résultats montrent la contribution des composés phénoliques dans l'activité anti radicalaire du cardon. En effet, La réduction du radical DPPH par les extraits de plantes a été attribuée, par plusieurs auteurs, à la présence de composés phénoliques qui cèdent facilement des protons pour le réduire (Tepe et al ., 2007 ; Kubola et al ., 2008 ; Sarikurkcu et al ., 2008 ; Diouf et al ., 2009 ; Li et al ., 2009).

**Tableau VII :** Résultats de l'étude préliminaire de l'extraction assistée par micro-ondes. La teneur en CPT est exprimée en matière fraîche (MF) par 100 g de carbon ; Equivalent Acide Gallique (EAG).

solvants		Puissance d'irradiation		Temps d'irradiation		Ratio (solvant/solide)	
Type	Teneur en CPT (mg EAG/100 g MF)	(W)	Teneur en CPT (mg EAG/100 g MF)	(min)	Teneur en CPT (mg EAG/100 g MF)	(ml)	Teneur en CPT (mg EAG/100 g MF)
<b>Ethanol 50%</b>	31,733±0,46 <sup>a</sup>	<b>100</b>	7,86±0,46 <sup>d</sup>	<b>2</b>	28,76±0,70 <sup>d</sup>	<b>20</b>	21,81±1,88 <sup>d</sup>
<b>Méthanol 50%</b>	18,95±1,08 <sup>c</sup>	<b>300</b>	20,76±0,98 <sup>c</sup>	<b>3</b>	36,53±0,28 <sup>c</sup>	<b>30</b>	24,86±0,80 <sup>bcd</sup>
<b>Acétone 50%</b>	26,46±0,30 <sup>b</sup>	<b>500</b>	31,73±0,46 <sup>a</sup>	<b>4</b>	42,5±0,77 <sup>b</sup>	<b>40</b>	28,97±0,88 <sup>ab</sup>
<b>Eau distille</b>	10,66±0,09 <sup>d</sup>	<b>700</b>	28,04±0,23 <sup>b</sup>	<b>5</b>	44,53±1,20 <sup>ab</sup>	<b>50</b>	28,69±0,85 <sup>abc</sup>
		<b>900</b>	28,62±0,84 <sup>ab</sup>	<b>6</b>	46,8±0,84 <sup>a</sup>	<b>60</b>	31,73±0,75 <sup>a</sup>
				<b>7</b>	45,86±0,07 <sup>ab</sup>	<b>70</b>	21,18±1,40 <sup>d</sup>

Les différentes lettres suivant les valeurs de chaque extraction indiquent une différence significative selon Tukey's ( $p < 0,05$ ).

# **Conclusion**

La présente étude a été consacrée à l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques de *Cynara cardunculus* (le cardon) et à l'étude de l'effet de la cuisson sur la composition phénolique et l'activité antioxydante de ce dernier.

Une technique efficace d'extraction a été développée pour extraire les CPT qui est l'extraction assistée par micro-ondes. Les paramètres de fonctionnement ont été optimisés en utilisant la méthodologie de surface de réponse (RSM).

La RSM a été utilisée avec succès pour étudier l'influence de la puissance d'irradiation, le temps d'extraction et le ratio solide/liquide sur les CPT des extraits du cardon.

Les conditions d'extraction optimales sont : puissance d'irradiation 900W ; temps d'extraction 6 min ; ratio solide / liquide 56 ml.

Une cuisson de l'échantillon a été effectuée afin d'évaluer la teneur en composés phénoliques de l'échantillon cuit et celle de l'eau de cuisson, les résultats sont comparés à celle de l'échantillon frais.

D'après les résultats obtenus, la teneur en composés phénoliques du cardon cru est de 54,76 mg EAG/100 g MF. Cette valeur est proche de la valeur prédite par le plan d'expérience qui est de 54,07 mg EAG/100 g MF, ce qui certifie la validité du model utilisé. La teneur en CPT du cardon cuit et de son eau de cuisson est de 38,64 et 14.57 mg EAG/100 g MF, respectivement. La teneur en flavonoïdes du cardon cru est de 7,59 mg EQ/100 g MF et celle du cardon cuit est de 4 mg EQ/100 g MF.

La mesure du pouvoir antioxydant est réalisée par deux méthodes ; le pouvoir réducteur qui mesure la capacité des extraits à réduire les ions métalliques et le pouvoir anti radicalaire utilisant le radical stable DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle).

D'après les résultats obtenus, le cardon cru présente le pouvoir réducteur le plus élevé suivi par le cardon cuit et enfin par l'eau de cuisson.

Le pouvoir anti radicalaire a révélé le pourcentage d'inhibition de l'ordre de 50,73% pour le cardon cru ; 34,40% pour le cardon cuit et 23,52% pour l'eau de cuisson.

L'étude statistique a démontré l'existence de bonnes corrélations linéaires entre la teneur en composés phénoliques totaux du cardon et son pouvoir réducteur ( $r = 0,84$ ) ainsi que son activité anti radicalaire ( $r = 0,97$ ), ce qui montre la contribution des composés phénoliques dans le pouvoir antioxydant du cardon.

Les résultats de la présente étude montrent que l'extraction assistée par micro-onde est une méthode rapide et fiable pour l'analyse quantitative des composés phénoliques et que la cuisson est un facteur influant sur la composition phénolique et l'activité antioxydante du *Cynara cardunculus*.

En termes de perspectives et dans le but de compléter ce travail dans l'avenir, il serait intéressant :

- ✓ D'optimiser d'autres paramètres influençant l'extraction des composés phénoliques tels que le pH, la température...etc.
- ✓ De déterminer d'autres types d'activités (que l'activité antioxydante) telles que les activités anti-inflammatoire, antibactérienne... etc.
- ✓ Utiliser des techniques d'analyses avancées (HPLC-MS, RMN...etc.) pour identifier les antioxydants des extraits optimaux.

# **Références bibliographiques**

## A

**Ahmad, J. and T. Langrish (2012).** "Optimisation of total phenolic acids extraction from mandarin peels using microwave energy: the importance of the Maillard reaction." *Journal of Food Engineering* **109**(1): 162-174.

**Amin, N. A. S. and S. E. Pheng (2006).** "Influence of process variables and optimization of ethylene yield in oxidative coupling of methane over Li/MgO catalyst." *Chemical Engineering Journal* **116**(3): 187-195.

**Astier-Dumas, M. (1986).** "L'alimentation face aux exigences nutritionnelles."

**Audigié, C., G. Dupont, et al. (1992).** Principes des méthodes d'analyse biochimique, Wolters Kluwer France .

## B

**Balasundram, N., K. Sundram, et al. (2006).** "Phenolic compounds in plants and agri industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses." *Food Chemistry* **99**(1): 191-203.

**Beeby, S. P., R. Torah, et al. (2007).** "A micro electromagnetic generator for vibration energy harvesting." *Journal of Micromechanics and microengineering* **17**(7): 1257.

**Beghdad M.CH., 2010.** Etude phytochimique et activité antioxydante de Quelques Espèces végétales du Nord-ouest Algérien. These de Doctotat.Pp 122-146.

**Benbrook, C. M. (2005).** "Elevating antioxidant levels in food through organic farming and food processing." *The Organic Center, Foster, RI* **81**.

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

**Bougrin, K., A. Loupy, et al. (2005).** "Microwave-assisted solvent-free heterocyclic synthesis." *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews* **6**(2): 139-167.

**Bourgou, S., R. Ksouri, et al. (2008).** "Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots." *Comptes Rendus Biologies* **331**(1): 48-55.

**Brand-Williams, W., M.-E. Cuvelier, et al. (1995).** "Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity." *LWT-Food science and Technology* **28**(1): 25-30.

**Brickell, C. and P. Mioulane (2004).** Encyclopédie des 15000 plantes et fleurs de jardin, Larousse.

## C

**Causauret, J. (1986).** "Caractéristiques nutritionnelles et bon usage de nos aliments. ." 1-15.

**Chan, C.-H., R. Yusoff, et al. (2011).** "Microwave-assisted extractions of active ingredients from plants." *Journal of Chromatography A* **1218**(37): 6213-6225.

**Chan, S., C. Lee, et al. (2009).** "Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limau purut (*Citrus hystrix*) peels." *International Food Research Journal* **16**(2): 203-213.

**Chagnon P. (2005).** Plans d'expériences (partie 1) : Principes généraux. Contrôles Essais Mesures, 11: 69-72p.

**Convoitise J., (1983).** Le livre d'herbe. Le coq main réserve. IBSN, 553-827.

## D

**D'Alessandro, L. G., K. Kriaa, et al. (2012).** "Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry." *Separation and Purification Technology* **93**: 42-47.

**Dahmoune, F., L. Boulekbache, et al. (2013).** "Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants: evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction." *Industrial Crops and Products* **50**: 77-87.

**Dahmoune, F., G. Spigno, et al. (2014).** "Pistacia lentiscus leaves as a source of phenolic compounds: Microwave-assisted extraction optimized and compared with ultrasound-assisted and conventional solvent extraction." *Industrial Crops and Products* **61**: 31-40.

**Datta, A. K. (2001).** Handbook of microwave technology for food application, CRC Press.

**Diouf, P. N., T. Stevanovic, et al. (2009).** "Study on chemical composition, antioxidant and anti-inflammatory activities of hot water extract from *Piceamariana* bark and its proanthocyanidin-rich fractions." *Food Chemistry* **113**(4): 897-902.

**Djeridane, A., M. Yousfi, et al. (2006).** "Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds." *Food Chemistry* **97**(4): 654-660.

**Djerromi A., Nacef M., 2004.** 100 Plantes médicinales d'Algérie. Ed: palais du livre. ISBN,9961-749-25-1. pp 55.

**Doymaz, İ. (2004).** "Convective air drying characteristics of thin layer carrots." *Journal of Food Engineering* **61**(3): 359-364.

**Duan, X.-J., W.-W. Zhang, et al. (2006).** "Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*." *Food Chemistry* **95**(1): 37-43.  
**DUPIN, H. 1992.** Alimentation et nutrition humaines. Esf Editeur.

## *E*

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

**Elmastaş, M., I. Gülçin, et al. (2006).** "Radical scavenging activity and antioxidant capacity of bay leaf extracts." *J Iran Chem Soc* **3**: 258-266.

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

**Evans, J. L. (2007).** "Antioxidants: do they have a role in the treatment of insulin resistance?" *Indian Journal of Medical Research* **125**(3): 355.

## *F*

**Fabri, R., M. Nogueira, et al. (2009).** "Mitracarpus frigidus aerial parts exhibited potent antimicrobial, antileishmanial, and antioxidant effects." *Bioresource technology* **100**(1): 428-433.

**Faucher, J. (2006).** Les plans d'expériences pour le réglage de commandes à base de logique floue, Institut National Polytechnique de Toulouse.

**Favier, J.-C., J. Ireland-Ripert, et al. (1995).** Répertoire général des aliments: table de composition= Composition tables.

**Fei, C. Y., J. Salimon, et al. (2010).** "Optimisation of urea complexation by Box-Behnken design." *Sains Malays* **39**(5): 795-803.

**Ferreira, S. C., R. Bruns, et al. (2007).** "Box-Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods." *Analytica chimica acta* **597**(2): 179-186.

## G

**Garnero, J. (1996).** Huiles essentielles, Ed. Techniques Ingénieur.

**Goupy, J. (2006).** Plans d'expériences, Ed. Techniques Ingénieur.

**Goupy, J. and L. Creighton (2006).** Introduction aux plans d'expériences-3ème édition-Livre+ CD-Rom, Dunod.

**Granato, D., G. F. Branco, et al. (2010).** "WITHDRAWN: Experimental design and application of response surface methodology for process modelling and optimization: A review." *Food Research International*.

**Guo, C., J. Yang, et al. (2003).** "Antioxidant activities of peel, pulp and seed fractions of common fruits as determined by FRAP assay." *Nutrition Research* **23**(12): 1719-1726.

## H

**Hernandez Ochoa, L. R. (2005).** Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combiné «solvant/actif» d'origine végétale, Institut National Polytechnique de Toulouse.

**Hu, J., K. P. Johnston, et al. (2003).** "Spray freezing into liquid (SFL) particle engineering technology to enhance dissolution of poorly water soluble drugs: organic solvent versus organic/aqueous co-solvent systems." *European journal of pharmaceutical sciences* **20**(3): 295-303.

**Huang, D.-J., C. Hsien-Jung, et al. (2005).** "Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) constituents." *Botanical Bulletin of Academia Sinica* **46**.

**Hussain, A. I., F. Anwar, et al. (2011).** "Antioxidant attributes of four Lamiaceae essential oils." *Pak J Bot* **43**(2): 1315-1321.

## K

**Kappe, C. O., B. Pieber, et al. (2013).** "Microwave effects in organic synthesis: myth or reality?" *Angewandte Chemie International Edition* **52**(4): 1088-1094.

**Kingston, H. and S. Haswell (1997).** "Microwave-Enhanced Chemistry: Fundamentals." Sample Preparation, and Applications, Washington, DC.

**Koubaa, I. and M. Damak (2003).** "A new dilignan from *Cynara cardunculus*." *Fitoterapia* **74**(1): 18-22.

**Koubaa, I., M. Damak, et al. (1999).** "Constituents of *Cynara cardunculus*." *Fitoterapia* **70**(2): 212-213.

**Kubola, J. and S. Siriamornpun (2008).** "Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf, stem and fruit fraction extracts in vitro." *Food Chemistry* **110**(4): 881-890.

**Kukić, J., V. Popović, et al. (2008).** "Antioxidant and antimicrobial activity of *Cynara cardunculus* extracts." *Food Chemistry* **107**(2): 861-868.

## L

**Lapornik, B., M. Prošek, et al. (2005).** "Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time." *Journal of Food Engineering* **71**(2): 214-222.

**Lawson, J. (2010).** *Design and Analysis of Experiments with SAS*, CRC Press.

**Leandro, L. M., F. de Sousa Vargas, et al. (2012).** "Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins." *Molecules* **17**(4): 3866-3889.

**Lee, B., J. Jung, et al. (2005).** "Optimization of microwave-assisted extraction process of *Rehmannia Radix preparata* by response surface methodology." *Food Engineering Progress*.

**Li, H., X. Wang, et al. (2009).** "Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines." *Food Chemistry* **112**(2): 454-460.

**Liu, Q., X. Yang, et al. (2010).** "Optimization of ultrasonic-assisted extraction of chlorogenic acid from *Folium eucommiae* and evaluation of its antioxidant activity." *Journal of Medicinal Plants Research* **4**(23): 2503-2511.

**Lucchesi, M. E., F. Chemat, et al. (2004).** "Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: comparison with conventional hydro-distillation." *Journal of Chromatography A* **1043**(2): 323-327.

## M

**Macheix, J.-J., A. Fleuriet, et al. (2005).** *Les composés phénoliques des végétaux: un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*, PPUR Presses polytechniques.

**Mandal, V. and S. C. Mandal (2010).** "Design and performance evaluation of a microwave based low carbon yielding extraction technique for naturally occurring bioactive triterpenoid: Oleanolic acid." *Biochemical Engineering Journal* **50**(1): 63-70.

**Mazzeo, T., N'dri, D., Chiavaro, E., Visconti, A., Fogliano, V. and Pellegrini, N. (2011).** Effect of two cooking procedures on phytochemical compounds, total antioxidant capacity and colour of selected frozen vegetables. *Food Chemistry* **128**, 627-633.

**Michel, T. (2011).** Nouvelles méthodologies d'extraction, de fractionnement et d'identification: application aux molécules bioactives de l'argousier (*Hippophae rhamnoides*), Université d'Orléans.

**Michel, T., E. Destandau, et al. (2011).** "Evaluation of a simple and promising method for extraction of antioxidants from sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries: Pressurised solvent-free microwave assisted extraction." *Food Chemistry* **126**(3): 1380-1386.

**Moulton, D. 1982.** Sensory basis and perception of flavour. *Developments in food science*.

## N

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

**Ngoh Newilah, G. (2005).** Utilisation alimentaire, caractérisation physico-chimique et biochimique des fruits de quelques cultivars et hybrides de bananiers et plantains produits au Cameroun. In, PhD Thesis, Université de Yaoundé.

## O

**Olivera, D.F., Vina, S.Z., Marani, C.M., Ferrayera, R.M., Mugridge, A., Chaves, A.R. and Mascheroni, R.H. (2008).** Effect of blanching on the quality of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. gemmifera DC) after frozen storage. *Journal of Food Engineering* **84**, 148-155.

**Oniszczyk, A. and R. Podgórski (2015).** "Influence of different extraction methods on the quantification of selected flavonoids and phenolic acids from *Tilia cordata* inflorescence." *Industrial Crops and Products* **76**: 509-514.

**Ou, B., D. Huang, et al. (2002).** "Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant

power (FRAP) assays: a comparative study." *Journal of agricultural and food chemistry* **50**(11): 3122-3128.

**Oudot C. (1999).** Technique de stabilisation in la transformation des aliments, option génie alimentaire, Editions ballery Techniplus, France, 79 p.

**Ozenda, P. (1983).** Flore du sahara 2e éd CNRS, Paris.

## P

**Paris, R.-R. and H. Moyse (1971).** *Précis de matière médicale: Pharmacognosie spéciale: Dicotylédones (suite): Gamopétales*, Masson.

**Pérez-Serradilla, J. and M. L. de Castro (2011).** "Microwave-assisted extraction of phenolic compounds from wine lees and spray-drying of the extract." *Food Chemistry* **124**(4): 1652-1659.

**Pinelli, P., F. Agostini, et al. (2007).** "Simultaneous quantification of caffeoyl esters and flavonoids in wild and cultivated cardoon leaves." *Food Chemistry* **105**(4): 1695-1701.

**Popovici, C., I. Saykova, et al. (2010).** "Evaluation de l'activité antioxydant des composés phénoliques par la réactivité avec le radical libre DPPH."

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

## R

**Rais, F., A. Kamoun, et al. (2011).** "Etude par plans d'expériences de le robustesse d'un procédé de préparation de sulfate - amide des acides gras de grignons d'olive." *Journal de la Société Chimique de Tunisie* **13**: 191-202.

**Raissi, S. and R.-E. Farsani (2009).** "Statistical process optimization through multi-response surface methodology." *World Academy of Science, Engineering and Technology* **51**(46): 267-271.

**Ribeiro, S., L. Barbosa, et al. (2008).** "Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties." *Food Chemistry* **110**(3): 620-626.

**Rodrigues, A., M. Pérez-Gregorio, et al. (2009).** "Effect of curing and cooking on flavonols and anthocyanins in traditional varieties of onion bulbs." *Food Research International* **42**(9): 1331-1336.

**Rocca-poliméni, R. (2007).** Contribution à la compréhension de la cuisson domestique sous pression de vapeur. Etude expérimentale et modélisation des transferts, de l'évolution de la texture des légumes et du fonctionnement d'un autocuiseur. In, AgroParisTech.

**Roy, M.K., Takenaka, M., Isobe, S. and Tsushida, T. (2007).** Antioxidant potential, anti-proliferative activities, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effects of thermal treatment. *Food Chemistry* **103**, 106-114.

## S

**Saraphirom, P. and A. Reungsang (2010).** "Optimization of biohydrogen production from sweet sorghum syrup using statistical methods." *international journal of hydrogen energy* **35**(24): 13435-13444.

**Sarikurkcü, C., B. Tepe, et al. (2008).** "Studies on the antioxidant activity of the essential oil and methanol extract of *Marrubium globosum* subsp. *globosum* (lamiaceae) by three different chemical assays." *Bioresource technology* **99**(10): 4239-4246.

**Scherer, R. and H. T. Godoy (2009).** "Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method." *Food Chemistry* **112**(3): 654-658.

**Shi, J., J. Yu, et al. (2003).** "Optimization of the extraction of polyphenols from grape seed meal by aqueous ethanol solution." *J. Food Agric. Environ* **1**(2): 42.

**Slanina, J., E. Táborská, et al. (2001).** "New and facile method of preparation of the anti-HIV-1 agent, 1, 3-dicaffeoylquinic acid." *Tetrahedron Letters* **42**(19): 3383-3385.

**Spigno, G., L. Tramelli, et al. (2007).** "Effects of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics." *Journal of Food Engineering* **81**(1): 200-208.

**Stratil, P., B. Klejdus, et al. (2006).** "Determination of total content of phenolic compounds and their antioxidant activity in vegetables evaluation of spectrophotometric methods." *Journal of agricultural and food chemistry* **54**(3): 607-616. SUGIMURA, T. 2002. Food and cancer. *Toxicology* **181**, 17-21.

## T

**Telli, A., N. Mahboub, et al. (2010).** "OPTIMISATION DES CONDITIONS D'EXTRACTION DES POLYPHENOLS DE DATTES LYOPHILISEES (Phoenix dactylifera L) VARIETE GHARS." *Annales des Sciences et Technologie* **2**(2): 107-114.

**Tepe, B., O. Eminagaoglu, et al. (2007).** "Antioxidant potentials and rosmarinic acid levels of the methanolic extracts of *Salvia verticillata* (L.) subsp. *verticillata* and *S. verticillata* (L.) subsp. *amasiaca* (Freyn & Bornm.) Bornm." *Food Chemistry* **100**(3): 985-989.

Terry, L. 2011. *Health-promoting properties of fruits and vegetables*. CABI.

**Thostenson, E. and T.-W. Chou (1999).** "Microwave processing: fundamentals and applications." *Composites Part A: Applied Science and Manufacturing* **30**(9): 1055-1071.

**Tinsson, W. (2010).** Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques, Springer Science & Business Media.

**Turkmen, N., F. Sari, et al. (2005).** "The effect of cooking methods on total phenolics and antioxidant activity of selected green vegetables." *Food Chemistry* **93**(4): 713-718.

## U

**Uma, D., C. Ho, et al. (2010).** "Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from Henna (*Lawsonia inermis*) leaves." *Sains Malaysiana* **39**(1): 119-128.

**Valentão, P., E. Fernandes, et al. (2002).** "Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid." *Journal of agricultural and food chemistry* **50**(17): 4989-4993.

## V

**Veberic, R., M. Colaric, et al. (2008).** "Phenolic acids and flavonoids of fig fruit (*Ficus carica* L.) in the northern Mediterranean region." *Food Chemistry* **106**(1): 153-157.

**Veggi, P. C., J. Martinez, et al. (2012).** Fundamentals of microwave extraction. *Microwave-assisted extraction for bioactive compounds*, Springer: 15-52.

**Vermerris, W. and R. Nicholson. (2006).** "Phenolic compound biochemistry." *New York: Publisher Springer*: 151-196.

**Vermerris, W. and R. Nicholson (2007).** Phenolic compound biochemistry, Springer Science & Business Media.

**Vermerris, W. and R. Nicholson (2008).** Families of phenolic compounds and means of classification. *Phenolic compound biochemistry*, Springer: 1-34.

**Vivier, S. (2002).** Stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis, Ecole Centrale de Lille.

## W

**Wang, L., B. Yang, et al. (2008).** "Optimisation of supercritical fluid extraction of flavonoids from *Pueraria lobata*." *Food Chemistry* **108**(2): 737-741.

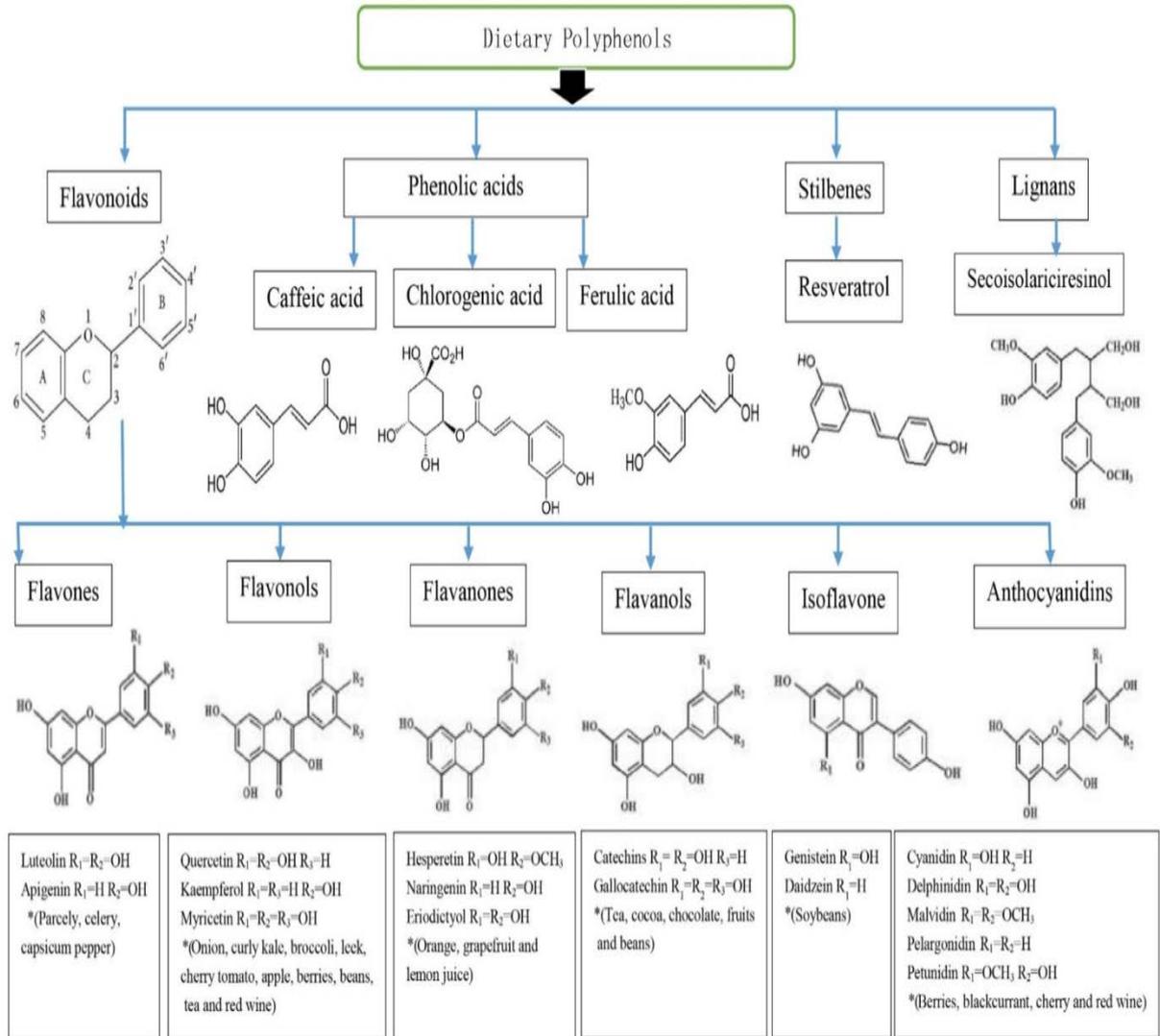
## Z

**Zhang, D. and Y. Hamauzu (2004).** "Phenolics, ascorbic acid, carotenoids and antioxidant activity of broccoli and their changes during conventional and microwave cooking." *Food Chemistry* **88**(4): 503-509.

**Zhang, Y., C. Liu, et al. (2011).** "Application of accelerated solvent extraction coupled with high-performance counter-current chromatography to extraction and online isolation of chemical constituents from *Hypericum perforatum* L." *Journal of Chromatography A* **1218**(20): 2827-2834.

# **Annexes**

**Annexe I : Les différentes classes de polyphénols**



**Figure 01 : Les différentes classes de polyphénols (Kim et al ., 2016)**

## **Annexe II : Préparation de quelques réactifs**

### **➤ Préparation de la solution du Carbonate de sodium à 7.5% : 7.5 g de carbonate de Na dans 100 ml d'eau distillée (ED)**

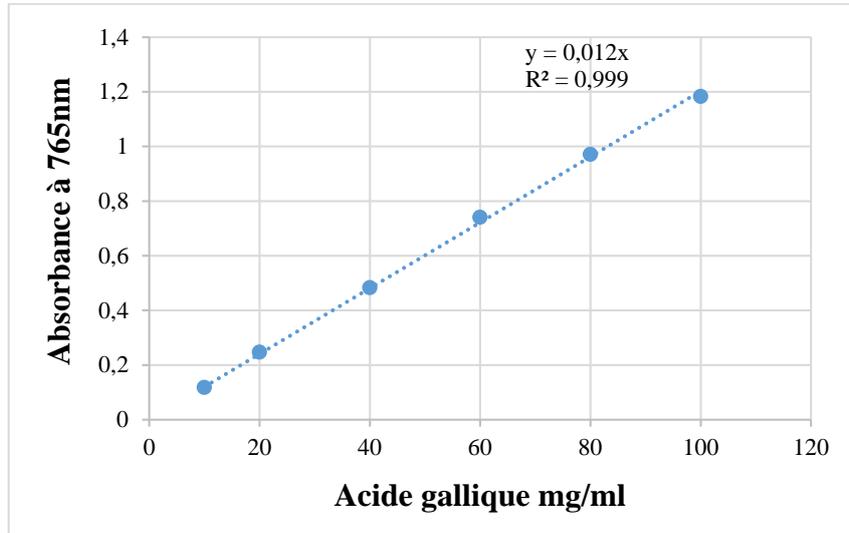
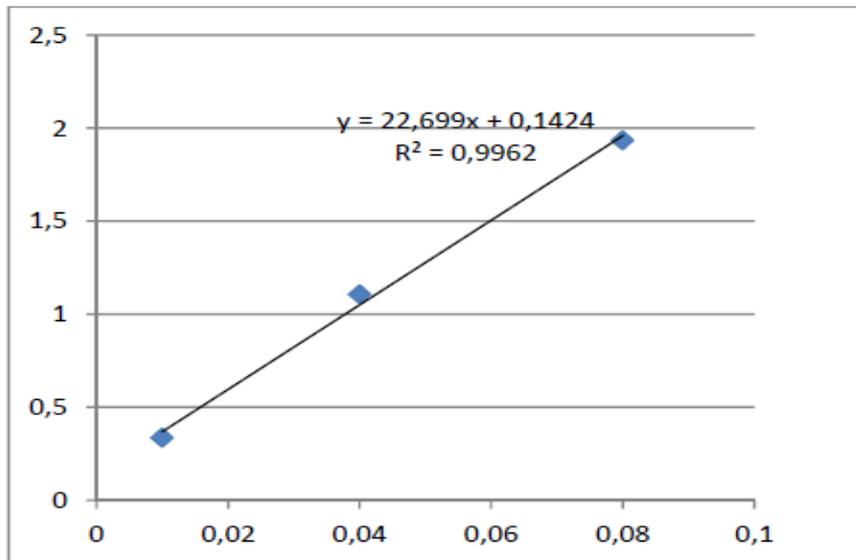
Dans une fiole de 100 ml, mettre un barreau magnétique plus une petite quantité du volume d'ED (des 100 ml) puis rajouter 7.5 g de carbonate de Na. Mélanger pour éviter que cette dernière se cristallise, puis verser le volume restant d'ED. Bien agiter le tout au vortex et compléter l'agitation environ 1h 30 à 2h sur une plaque agitatrice à froid (sans chauffage) jusqu'à dissolution complète du carbonate de Na. Retirer le barreau magnétique, si le volume total diminue, ajuster avec l'ED à 100 ml et mettre dans un flacon ambré à 4°C.

### **➤ Préparation de la solution 0.004% de DPPH**

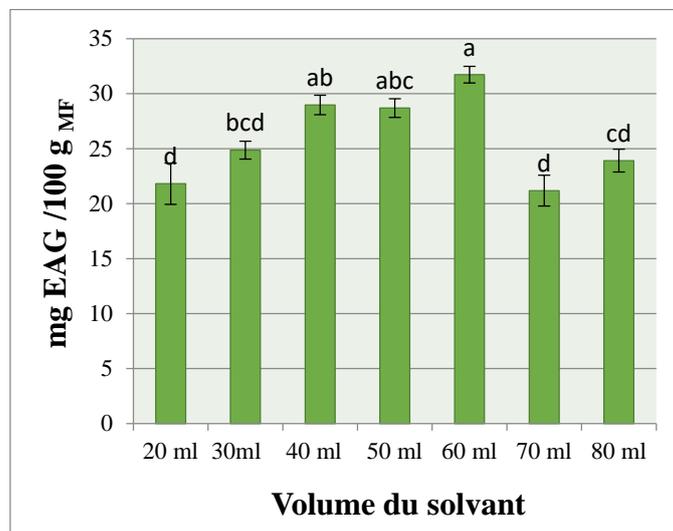
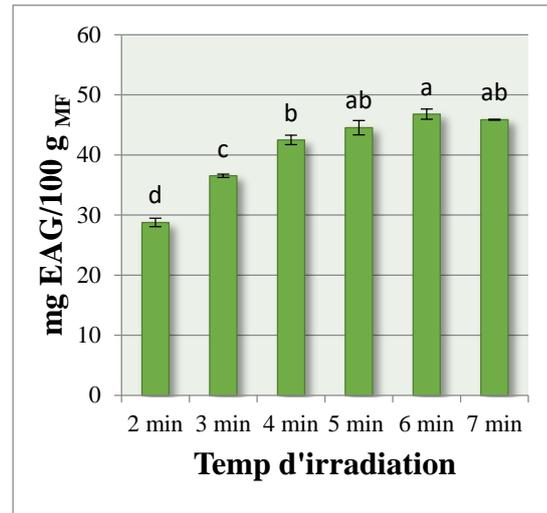
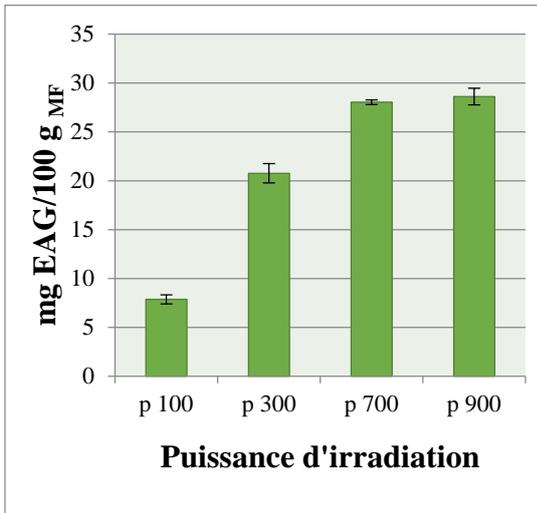
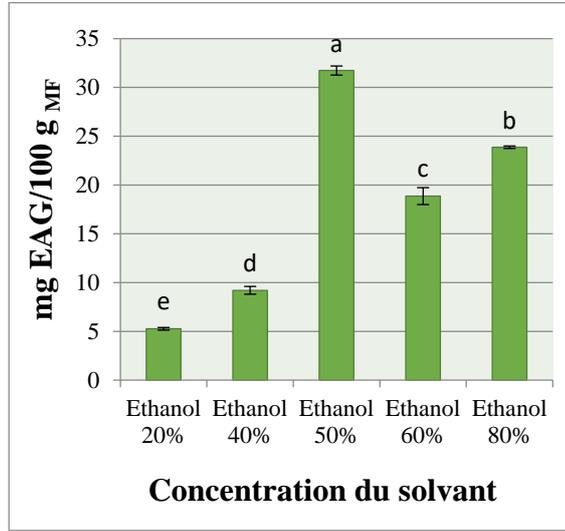
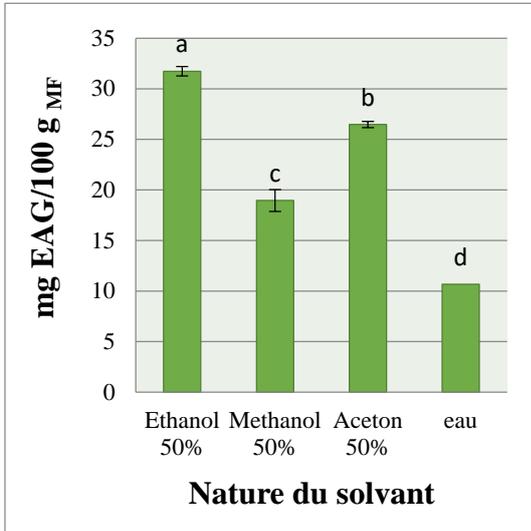
Dans une fiole de 100 ml, mettre un barreau magnétique plus 4 mg de DPPH puis ajouter 100 ml de méthanol et laisser agiter sur une plaque agitatrice à froid. Retirer le barreau et ajuster avec le méthanol à 100 ml si le volume a été diminué. Réserver à 4°C dans un flacon ambré.

### **➤ Préparation de la solution de AlCl<sub>3</sub> 2%**

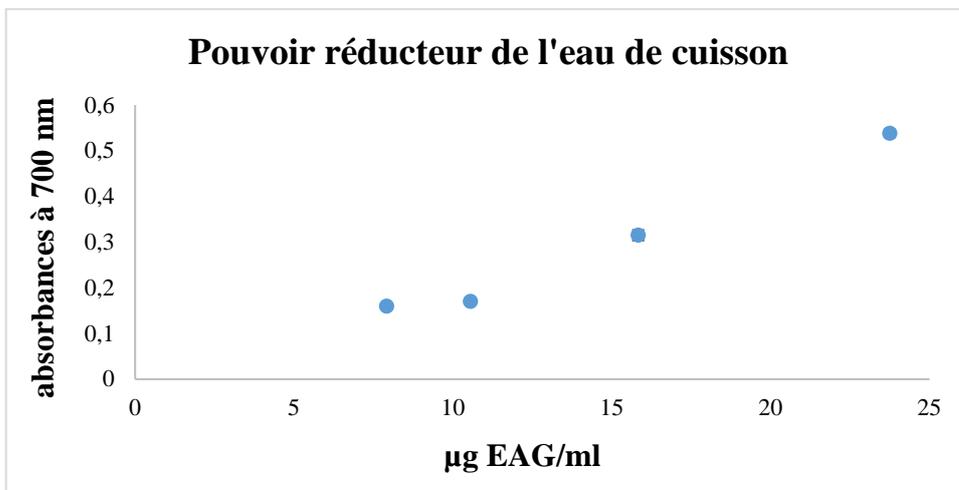
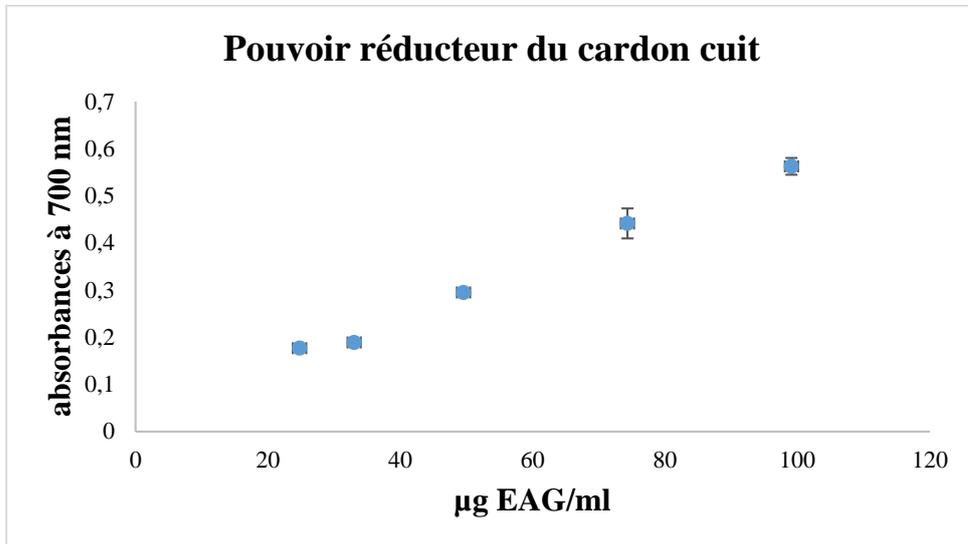
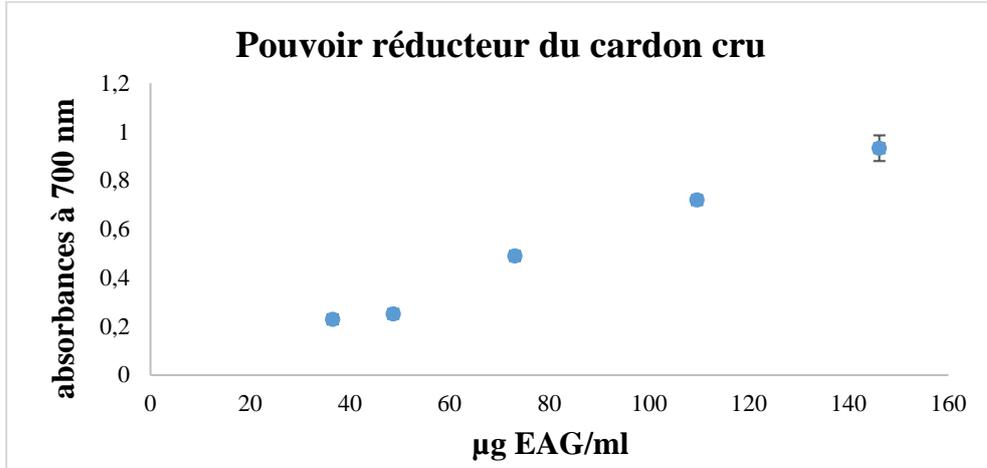
Dans une fiole de 100 ml, mettre un barreau magnétique plus 2 g de AlCl<sub>3</sub> puis ajouter 100 ml d'eau distillée et laisser agiter sur une plaque agitatrice à froid jusqu'à dissolution du produit (4 h ou plus). Retirer le barreau magnétique et si le volume total diminue ajuster à 100 ml avec l'ED. Conserver à 4°C dans un flacon ambré.

**Annexe III : Courbes d'étalonnages utilisées****Figure 01** : Courbe d'étalonnage des composés phénoliques.**Figure 02** : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

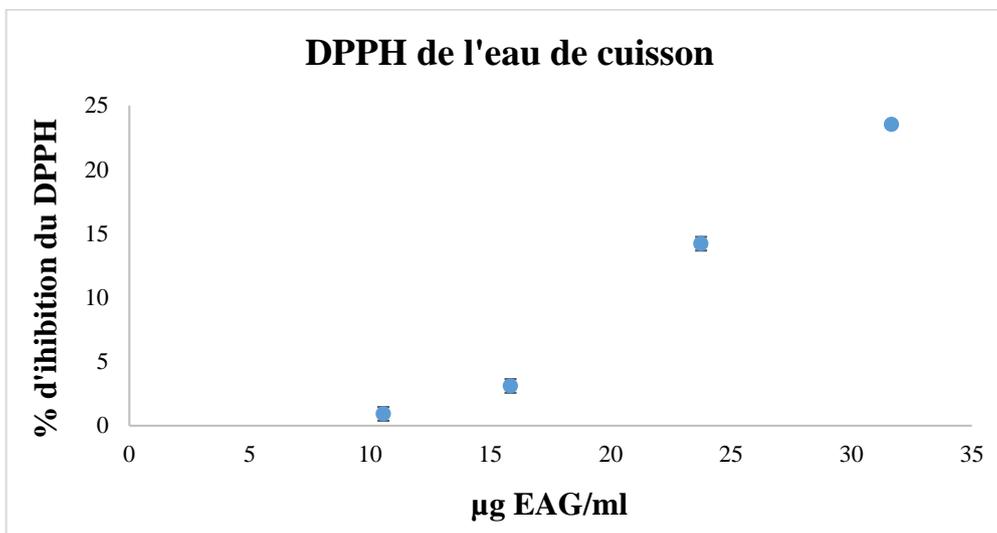
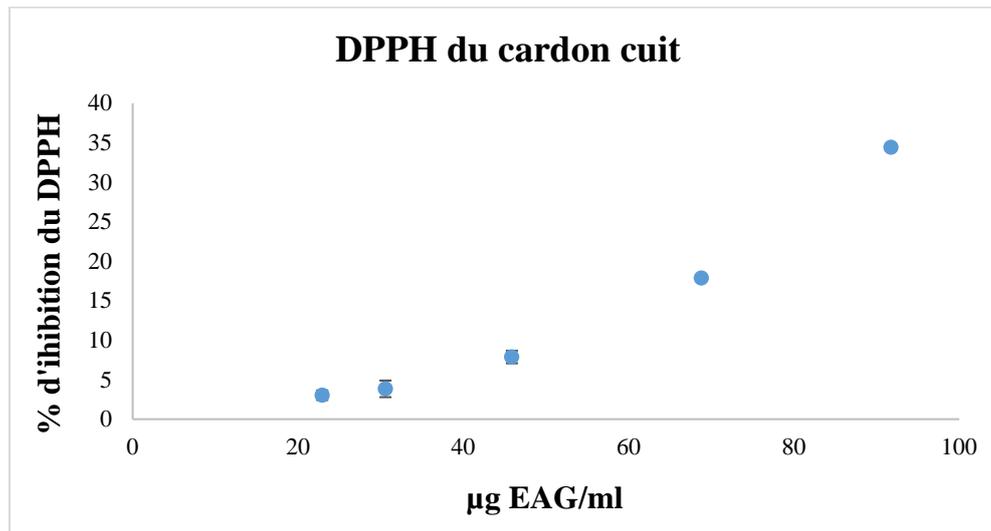
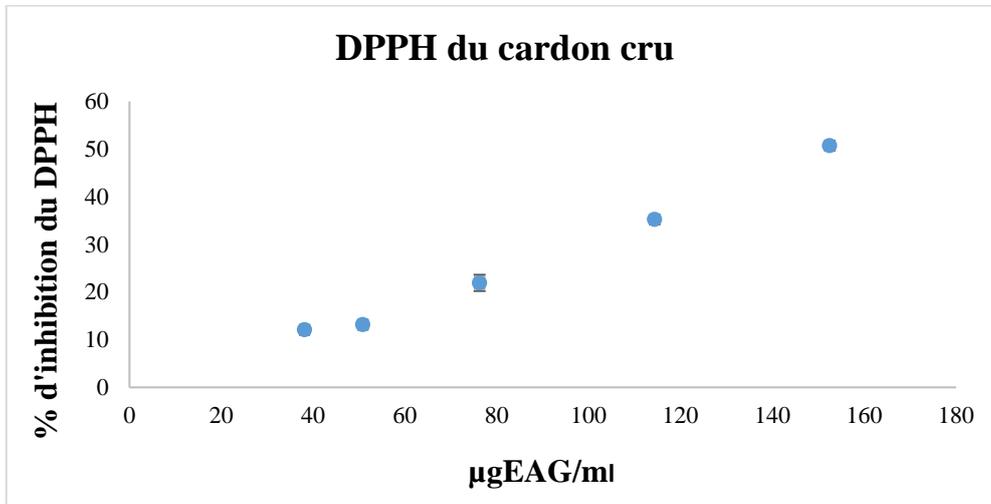
## Annexe IV : Choix des paramètres durant l'étude préliminaire

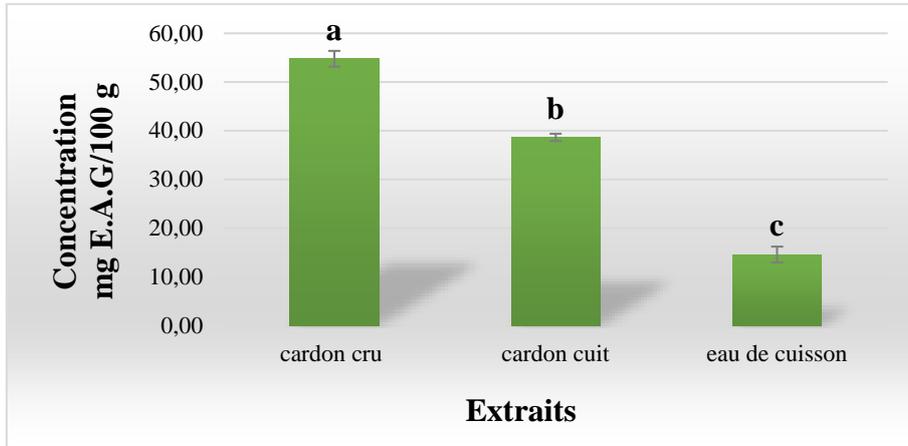
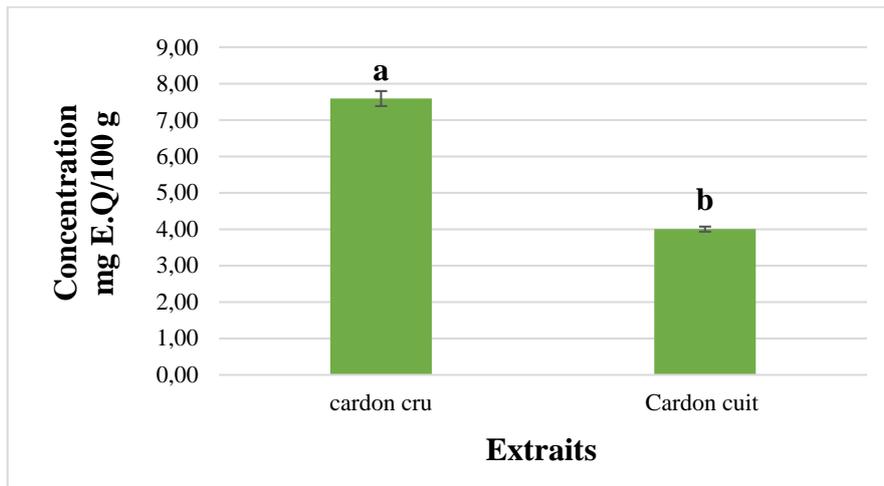


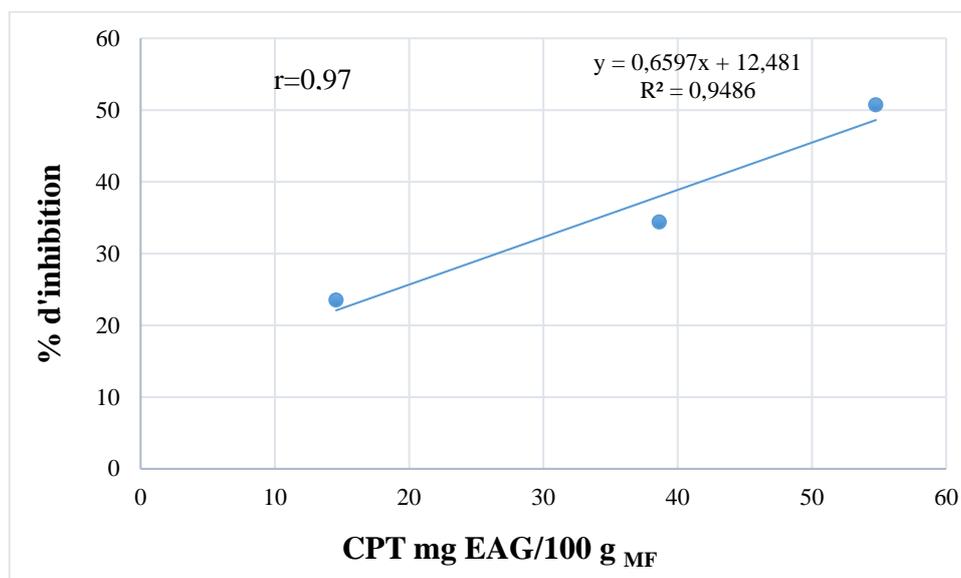
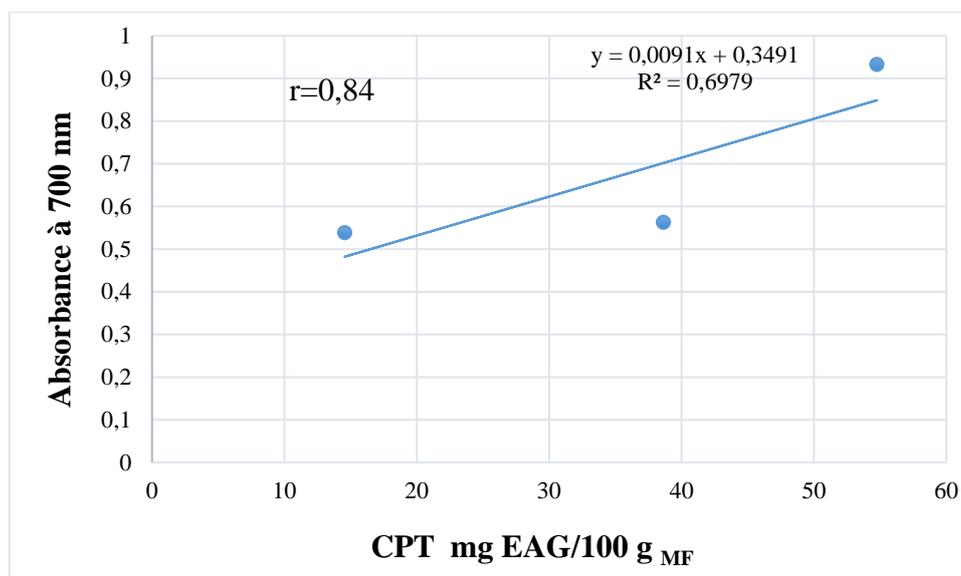
**Annexe V :** Courbes représentant les absorbances du pouvoir réducteur en fonction des concentrations  $\mu\text{g EAG/ml}$



**Annexe VI :** Courbes représentant le Pourcentage d'inhibition de DPPH en fonction des concentrations  $\mu\text{g EAG/ml}$



**Annexe VII : Résultats de dosage des antioxydants****Figure 01 : Teneur en CPT du cardon cru, cuit et eau de cuisson****Figure 02 : Teneur en flavonoïdes du cardon cru et cuit**

**Annexe VIII : La corrélation des antioxydants****Figure 01 :** La corrélation entre le pouvoir d'inhibition DPPH° et les CPT du cardon.**Figure 02 :** La corrélation entre le pouvoir réducteur et les CPT du cardon.

## Résumé

Dans cette étude, une cuisson du cardon a été réalisée afin de déterminer l'impact de la chaleur sur la teneur en polyphénols totaux et comparer celle-ci à la teneur en CPT du cardon cru. Une extraction assistée par micro-ondes (EAM) a été utilisée pour extraire les composés phénoliques du cardon. L'effet des trois facteurs indépendants, puissance du micro-onde, temps d'irradiation et le ratio (solide/liquide) sur la teneur des polyphénols totaux a été évaluée en utilisant la méthodologie de surface de réponse (RSM). Les conditions optimales d'EAM permettant d'avoir un meilleur rendement en CPT sont 900W pour la puissance du micro-ondes, 6 min pour le temps d'irradiation et 56 ml de solvant pour le ratio alors que le poids du cardon a été fixé à 15 g durant toutes les manipulations. Une quantification des polyphénols totaux et des flavonoïdes et une évaluation de l'activité antioxydante (pouvoir antiradicalaire et réducteur) des échantillons étudiés ont été effectués. Une bonne corrélation positive a été enregistrée entre les teneurs en composés phénoliques des extraits étudiés et leur activité antioxydante. Une baisse de 30% de la teneur en CPT a été observée après la cuisson du cardon. Les valeurs expérimentales sont proches des valeurs prédites ce qui confirme la validité du modèle mathématique.

**Mots clés :** Cuisson, Optimisation, Extraction assistée par micro-ondes, Composés phénoliques totaux, Le cardon, Méthodologie de surface de réponse.

## Abstract

In this study, cooking of cardoon was accomplished in order to determine the effect of heating on the total polyphenols content and compare it to raw cardoon TPC content. A microwave assisted extraction (MAE) was used to extract the cardoon phenolic compounds. The effect of the three independent factors: the microwave power, irradiation time and the solid/liquid ratio on the total polyphenols content was evaluated using the surface response methodology (RSM). MAE optimal conditions, allowing the best TPC yield are 900W for the microwave power, 6 minutes for irradiation time and 56ml ratio of solvent for 15 grams of cardoon for all samples. A quantification of total polyphenol and flavonoids was performed along with an evaluation of the antioxydizing (anti radical power and reductor) activity of the studied samples. A good positive correlation was recorded between the studied extractions content of phenolic compounds and their antioxydizing activity. A 30% decrease of TPC content is observed after the cooking of cardoon. The experimental values are close to the predicted value which confirms the accuracy of the mathematic pattern.

**Key words:** Cooking, Optimization, Microwave assisted extraction, Total phenolic compounds, Surface response methodology.