



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE ABOU-BEKR BELKAID - TLEMCEM

MÉMOIRE

Présenté à :

FACULTÉ DES SCIENCES – DÉPARTEMENT DE CHIMIE

Pour l'obtention du diplôme de :

MASTER EN CHIMIE

Spécialité : **Chimie Analytique**

Par :

**Mlle BENCHACHOU Khadidja
et Mr BELLOUT Mohcine Amir Akram**

Sur le thème

Extraction ultrasonique des polyphénols de matrices végétales

Soutenu publiquement le 15 juin à l'Université de Tlemcen devant le jury composé de :

Mr BELKHOUCHE Nasreddine	Professeur	Université de Tlemcen	Président
Mr DIDI Mohamed Amine	Professeur	Université de Tlemcen	Encadrant
Mme NAÏT-TAHAR Sanaa	Docteur	ESSA-Tlemcen	Examinatrice
Mme BENYAHIA Nacera	Docteur	Centre Univ. de Maghnia	Examinatrice

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier ALLAH le tout Puissant et miséricordieux, qui nous a guidé sur le droit chemin.

*Nous voudrions exprimer nos profonds remerciements à notre encadrant, **Pr DIDI Mohamed Amine**, Professeur en chimie à l'Université de Tlemcen qui nous a fait l'honneur d'accepter la direction de ce mémoire. Nous vous remercions pour la qualité de votre encadrement, vos compétences, votre disponibilité, vos précieux conseils le long de l'élaboration de ce travail mais surtout votre patience qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port, vos qualités humaines et pédagogiques ont été grandement appréciées et font de vous un exemple à suivre pour chaque futur chimiste. Veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et notre immense gratitude.*

*Nos sincères remerciements sont adressés au président de jury, **Pr BELKHOUCHE Nasreddine**, Professeur en chimie à l'Université de Tlemcen. Nous vous remercions d'avoir eu la gentillesse d'accepter de juger ce travail et aussi pour la qualité de votre enseignement, nous garderons de vous le souvenir de quelqu'un qui a su transmettre avec générosité ses connaissances. Veuillez trouver ici, le témoignage de notre reconnaissance et de notre respect.*

*Nous remercions vivement **Dr NAÏT-TAHAR Sanaa**, Docteur à l'école supérieure en sciences appliquées-Tlemcen (ESSAT) et **Dr BENYAHIA Nacera**, Docteur au Centre Universitaire de Maghnia d'avoir accepté de participer à l'évaluation de ce travail. Nous vous sommes très redevables pour l'intérêt que vous avez porté à notre sujet d'étude. Veuillez trouver ici le témoignage de notre sincère gratitude et notre plus grande reconnaissance.*

*Nous remercions également **Dr EL HABIRI Sid Ahmed** pour son aide très précieuse, sa disponibilité, ses conseils et ses connaissances dont il a su nous faire profiter.*

*Nous remercions également tout le personnel du laboratoire LTSP très particulièrement **Madame BELDJILALI Samira** pour son aide très précieuse.*

Enfin, nous remercions toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

Dédicaces

Je remercie le grand Dieu pour tout, et Je dédie ce mémoire à :

Mes très chers parents qui m'ont beaucoup soutenu et encouragé durant tout mon cursus,

Qu'ALLAH leur accorde une longue vie.

Je leur adresse mes remerciements les plus profonds, pour leurs conseils et surtout leur compréhension et pour tous les efforts qu'ils ont fournis pour nous permettre une meilleure vie.

Mes chers frères : Jalal et Adel

Mes chères sœurs

Tous mes amis

Tous mes camarades

Mes professeurs et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

BELLOUT Akram Amir

Dédicaces

À tous ceux qui méritent ma reconnaissance et ma vénération

Mes parents, mes sœurs Rabab & Rayhana, mon frère Farouq, mon amie Amal et mes enseignants ;

À tous les étudiants en chimie qui s'efforcent à acquérir les connaissances de cette discipline ;

À tous les pharmaciens qui luttent toujours à apporter de l'importance et de la considération aux sciences pharmaceutiques et à la recherche scientifique ;

À la mémoire de ma très chère amie, collègue et sœur **Dr HADDOU Marwa**, partie trop tôt,

Tu resteras gravée dans ma mémoire à tout jamais.

BENCHACHOU Khadidja

Table des matières

Remerciements	i
Dédicaces	ii
Table des matières	iv
Liste des abréviations	vi
Liste des tableaux	vii
Liste des figures.....	ix
Introduction.....	1
Revue de la littérature	
Chapitre I : Généralités sur les polyphénols.....	3
I. Introduction	3
II. Structures et classifications des composés phénoliques.....	3
Les flavonoïdes	3
Les non-flavonoïdes	5
III. Biodisponibilité des polyphénols.....	6
Absorption intestinale	6
Mécanismes de conjugaison	6
Transport et concentrations plasmatiques	6
Absorption tissulaire.....	7
Excrétion	7
IV. Biosynthèse des polyphénols.....	7
Voie de l'acide shikimique.....	7
Voie de l'acétate / malonate	8
V. Activités biologiques des polyphénols naturels	8
VI. Toxicité potentielle des polyphénols	10
Chapitre II : Stratégies et modes d'extraction des polyphénols.....	11
VII. Méthodes d'extraction des composés phénoliques	11
Extraction conventionnelle.....	11
Extraction assistée par micro-ondes (EAM)	11
Extraction par solvants.....	12
Extraction assistée par ultrasons (EAU)	12
VIII. Extraction assistée par ultrasons.....	12
Principe et caractéristiques.....	12
Les variables impliquées dans l'efficacité de l'EAU des polyphénols	15
Applications des ultrasons.....	15
IX. Les techniques de séparation et d'identification structurale des polyphénols	15
Chapitre III : Ressources en polyphénols naturels.....	17
X. Principales sources en polyphénols	17
XI. Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>).....	19

XII. Cyprès (<i>Tetraclinis articulata</i>).....	20
XIII. Son du blé	21

La partie pratique

Matériel et méthodes	22
I. Les objectifs de l'étude	22
II. Le type de l'étude	22
III. Le lieu de l'étude	22
IV. La période de l'étude	22
V. Le matériel végétal étudié	22
VI. Réactifs et appareillage	24
VII. Déroulement de l'étude.....	25
Effet du solvant sur l'EAU des polyphénols de Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>)	26
Effet de la masse sur l'EAU des polyphénols des matrices végétales étudiées.....	27
Analyse quantitative des composés phénoliques	30
VIII. Analyse des données.....	31
IX. Spectres d'absorption en UV-visible	31
Résultats et discussion.	32
I. Introduction	32
II. Effets du solvant et du temps	32
III. Effets de masse et du solvant pour différentes radiations	32
IV. Variation de la température aux cours des différentes extractions	63
V. Comparaisons entre les différentes matrices végétales.....	63
VI. Commentaires des résultats obtenus.....	64
L'effet de masse.....	64
L'effet du solvant.....	64
L'effet de la radiation.....	64
La température.....	64
VII. Discussion des résultats obtenus.....	65
Effet du solvant	65
Effet du temps d'extraction.....	66
Effet des ultrasons	66
Effet de la température.....	67
Effet du rapport soluté/solvant	67
Autres effets en perspectives	68
Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons	68
Conclusion et perspectives	70
Références bibliographiques	71

Liste des abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique
APG : Angiosperm Phylogeny Group
CLHP : Chromatographie Liquide Haute Performance
CoA : Coenzyme A
DAD : Diode Array Detector
DMF : Diméthylformamide
EAG : Equivalent d'Acide Gallique
EAM : Extraction Assistée par Micro-ondes
EAU : Extraction Assistée par Ultrasons
EC : Equivalent de Catéchine
GC : Gas Chromatography
Hz : Hertz
kHz : kilohertz
LC-MS : Liquid Chromatography-Mass Spectrometry
LTSP : Laboratoire des Technologies de Séparation et de Purification
MAPK : Mitogen-activated protein kinases
MHz : mégahertz
min : minute
mL : millilitre
NF- κ B : Nuclear Factor-kappa B
NO : Oxyde Nitrique
NOS : Nitric Oxyde synthase
pH : potentiel d'Hydrogène
ROS : Reactive Oxygen Species
RSM : Response Surface Methodology
UDP : Uridine Diphosphate
U-HPLC ou UPLC : Ultra Performance Liquid Chromatography
UV : Ultraviolet
V : Volume
W : Watt
°C : degré Celsius
 ΔT : Delta de températures
 μ g : microgramme

Liste des tableaux

Tableau I. Principales caractéristiques, avantages et inconvénients des technologies d'extraction nouvelles et conventionnelles.....	16
Tableau II. Les principales sources végétales des polyphénols	18
Tableau III. Caractéristiques du bain à ultrason WUC-D10H.....	25
Tableau IV. Étude de l'effet du solvant sur l'extraction ultrasonique des polyphénols de Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>).....	27
Tableau V. Étude de l'effet de masse sur l'extraction ultrasonique des polyphénols de Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>).....	29
Tableau VI. Étude de l'effet de masse sur l'extraction ultrasonique des polyphénols du Cyprès (<i>Tetraclinis articulata</i>)	29
Tableau VII. Étude de l'effet de masse sur l'extraction ultrasonique des polyphénols du son du blé (fibre).....	29
Tableau VIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	33
Tableau IX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	34
Tableau X. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès	35
Tableau XI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	35
Tableau XII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès	36
Tableau XIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	37
Tableau XIV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	37
Tableau XV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès	38
Tableau XVI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	39
Tableau XVII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès.....	39
Tableau XVIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) avec cyclohexane fonction de la masse du Cyprès	40
Tableau XIX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) avec chloroforme fonction de la masse du Cyprès	42
Tableau XX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre.....	43
Tableau XXI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	44
Tableau XXII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre.....	45
Tableau XXIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	45
Tableau XXIV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	46
Tableau XXV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre.....	47
Tableau XXVI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	47
Tableau XXVII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre.....	48
Tableau XXVIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	49
Tableau XXIX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	49
Tableau XXX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre.....	50
Tableau XXXI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	52
Tableau XXXII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao.....	53
Tableau XXXIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	54
Tableau XXXIV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	54
Tableau XXXV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao.....	55

Tableau XXXVI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	56
Tableau XXXVII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao.....	56
Tableau XXXVIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	57
Tableau XXXIX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	58
Tableau XL. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	58
Tableau XLI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	59
Tableau XLII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	60
Tableau XLIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	61
Tableau XLIV. Comparaison entre les trois matrices végétales	63

Liste des figures

Figure 1. Squelette de base des flavonoïdes	4
Figure 2. Structure chimique des flavonols.....	4
Figure 3. Structure chimique des flavan-3-ols.....	4
Figure 4. Structure chimique des anthocyanidines	5
Figure 5. Structure chimique des acides phénoliques	5
Figure 6. Structure chimique des stilbènes.....	6
Figure 7. Métabolisme des polyphénols par le microbiote intestinal humain.....	7
Figure 8. Voie de l'acide shikimique	8
Figure 9. Rôles des polyphénols sur le microbiote intestinal et implications dans la santé humaine	10
Figure 10. Le principe de la cavitation acoustique	13
Figure 11. Représentation graphique de l'effondrement de la bulle de cavitation et de la libération du matériel végétal en trois étapes.....	14
Figure 12. Représentation d'un système à ultrasons couplé à une sonde.....	14
Figure 13. Schéma des stratégies de détermination des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les fluides biologiques, les boissons, les plantes et les aliments	16
Figure 14. L'arbre Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>).....	20
Figure 15. Les différents organes du thuya. De gauche à droite : aiguilles, cônes, écorce.....	21
Figure 16. Structure anatomique de Son du blé.....	21
Figure 17. Poudre de Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>).....	23
Figure 18. Poudre de Cyprès (<i>Tetraclinis articulata</i>).....	23
Figure 19. Son du blé (fibre)	24
Figure 20. Bain à ultrason WUC-D10H.....	25
Figure 21. Spectres d'absorption des classes de flavonoïdes avec un exemple pour chacune	31
Figure 22. Spectre de l'acide Gallique.....	32
Figure 23. Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique	32
Figure 24. Spectre de la Catéchine	33
Figure 25. Courbe d'étalonnage de la Catéchine.....	33
Figure 26. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}C$)	34
Figure 27. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}C$)	34
Figure 28. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}C$)	35
Figure 29. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}C$)	36
Figure 30. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)	36
Figure 31. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)	37
Figure 32. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)	38
Figure 33. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)	38

Figure 34. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}\text{C}$)	39
Figure 35. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}\text{C}$)	40
Figure 36. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès	41
Figure 37. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du Cyprès	41
Figure 38. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès	42
Figure 39. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du Cyprès	43
Figure 40. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}\text{C}$)	44
Figure 41. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}\text{C}$)	44
Figure 42. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}\text{C}$)	45
Figure 43. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}\text{C}$)	46
Figure 44. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}\text{C}$)	46
Figure 45. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}\text{C}$)	47
Figure 46. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}\text{C}$)	48
Figure 47. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}\text{C}$)	48
Figure 48. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}\text{C}$)	49
Figure 49. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}\text{C}$)	50
Figure 50. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	51
Figure 51. Q (mg EC/g) en fonction de la masse de la fibre	51
Figure 52. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre	52
Figure 53. Q (mg EC/g) en fonction de la masse de la fibre	53
Figure 54. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}\text{C}$)	53
Figure 55. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}\text{C}$)	54
Figure 56. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}\text{C}$)	55
Figure 57. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}\text{C}$)	55
Figure 58. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}\text{C}$)	56
Figure 59. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}\text{C}$)	57
Figure 60. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}\text{C}$)	57
Figure 61. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}\text{C}$)	58
Figure 62. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}\text{C}$)	59
Figure 63. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}\text{C}$)	59
Figure 64. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	60
Figure 65. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du filao	61
Figure 66. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao	62
Figure 67. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du filao	62
Figure 68. Variation de la température en fonction du pourcentage de la radiation	63

Introduction générale

Les polyphénols sont une classe structurale de produits chimiques organiques comprenant principalement des composés naturels et synthétiques, contenant un grand nombre de composants phénoliques structuraux (1). Ces derniers sont appréciés par différents domaines de l'industrie, notamment les industries alimentaire et pharmaceutique (2,3). Leurs activités biologiques sont multiples (4,5) : antimicrobiennes, antiallergiques, antivirales, anti-inflammatoires, antioxydants, cardioprotectrices et vasodilatatrices (6,1), antidiabétiques (7) et anticancéreuses (5,3). Les composés phénoliques sont reconnus comme de puissants antioxydants naturels en raison de leurs doubles liaisons et de leurs groupes hydroxyle, capables d'empêcher l'oxydation des radicaux libres (piègent les espèces réactives de l'oxygène (ROS)), qui peuvent endommager les molécules physiologiques des cellules, telles que les protéines lipidiques et l'acide désoxyribonucléique (ADN) (8,9,10,11). Dans les applications alimentaires, ils stabilisent les radicaux libres par délocalisation de résonance au lieu de mettre fin aux radicaux libres peroxy en donnant un atome d'hydrogène comme le font les antioxydants commerciaux. Ils peuvent remplacer potentiellement les antioxydants synthétiques (qui ont montré certaines preuves de propriétés toxiques et cancérigènes) dans la conservation et l'enrichissement des aliments (9).

En raison des innombrables caractéristiques bénéfiques des polyphénols pour la santé humaine, la recherche s'est intensifiée, visant à trouver des fruits, des légumes, des plantes, des résidus agricoles et agro-industriels comme sources de ces composants bioactifs (5,11). L'obtention de ces composés nécessite souvent de nombreuses étapes longues et coûteuses, telles que l'extraction, l'isolation et l'identification (12), et entraîne souvent la dégradation thermique de divers constituants bioactifs (11,13,14). Dans ce contexte, le développement de nouvelles méthodes d'extraction novatrices est l'un des défis majeurs de l'innovation technologique en direction de la " chimie verte " (9,11,15,16). Parmi elles, l'extraction assistée par ultrasons (EAU) est particulièrement intéressante en raison de sa simplicité, du faible coût de l'équipement, de son efficacité dans l'extraction d'analytes à partir de différentes matrices et de la nécessité d'une faible énergie, d'une quantité réduite de solvant et/ou de la consommation de temps (11,17,18), d'une sélectivité et une productivité élevées, d'une réduction des risques chimiques et physiques et d'un haut niveau d'automatisation (10,19,20) par rapport aux méthodes d'extraction conventionnelles (macération, Soxhlet,...), qui présentent plusieurs inconvénients (21), tels que l'utilisation de solvants volatils et dangereux, un temps d'extraction long et une énergie de récupération plus importante (10,11,22). Le mécanisme de l'EAU comprend trois effets : l'effet de cavitation, l'effet mécanique et l'effet thermique. La propagation d'ondes ultrasoniques entraîne la production de bulles de cavitation

acoustique, bulles qui créent une force de cisaillement. Les bulles perturbent la paroi cellulaire de la matrice végétale, entraînant une augmentation de la libération des composés bioactifs (1,3). Essentiellement, le traitement par ultrasons amplifie l'efficacité de l'extraction en accélérant la diffusion, en améliorant la pénétration du solvant et en augmentant le transfert de masse (9,21).

À notre connaissance, à l'Université de Tlemcen, aucun travail scientifique ne s'est intéressé spécifiquement à l'utilisation de l'EAU pour extraire les composés phénoliques des plantes. Dans cette perspective, nous nous sommes proposés de réaliser cette étude dont les objectifs principaux étaient d'étudier l'efficacité de l'EAU des polyphénols de certaines matrices végétales de la région de Tlemcen et d'optimiser les conditions opérationnelles (type de solvant, puissance ultrasonique, température, temps de sonication ainsi que le rapport liquide-solide) pour maximiser le rendement d'extraction de ces composés phénoliques.

Ce manuscrit comprend deux parties :

- **La première partie (Revue de la littérature)** se subdivise en trois chapitres ; le premier rappelle des généralités sur les polyphénols, le deuxième est consacré aux méthodes d'extraction de ces composés principalement par ultrasons et le troisième met en revue les principales sources végétales contenant des polyphénols.
- **La deuxième partie (Partie expérimentale)** détaille le matériel et les méthodes utilisés pour la réalisation de cette étude, les résultats obtenus suivis de leur discussion et comparaison avec les données de la littérature.

À l'issue des résultats de l'étude des recommandations et perspectives seront proposées.

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Chapitre I : Généralités sur les polyphénols

I. Introduction

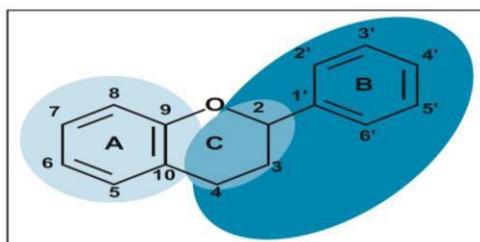
Les composés phénoliques ou polyphénols constituent l'un des groupes de produits naturels les plus nombreux et les plus répandus du règne végétal. Plus de 8000 structures phénoliques sont actuellement connues, et parmi elles, plus de 4000 flavonoïdes ont été identifiés (24-26). Bien que les polyphénols soient caractérisés chimiquement comme des composés ayant des caractéristiques structurales phénoliques, ce groupe de produits naturels est très diversifié et contient plusieurs sous-groupes de composés phénoliques. La diversité et la large distribution des polyphénols dans les plantes ont conduit à différentes façons de catégoriser ces composés naturels. Les polyphénols ont été classés selon leur source d'origine, leur fonction biologique et leur structure chimique. De plus, la majorité des polyphénols dans les plantes existent sous forme de glycosides avec différentes unités de sucre et des sucres acylés à différentes positions du squelette des polyphénols (24,27).

II. Structures et classifications des composés phénoliques

La structure des composés phénoliques va du simple noyau aromatique de faible poids moléculaire jusqu'aux tanins complexes de très haut poids moléculaire, et ils peuvent être classés par le nombre et l'arrangement des atomes de carbone les composant, en fonction de la nature de leur squelette carboné et en fonction de la longueur de la chaîne aliphatique liée au noyau benzénique (28,29). Les composés phénoliques sont capables de se conjuguer à des oses ou à des acides organiques : de ce fait, on peut les retrouver très souvent présents sous ces formes. Les composés phénoliques peuvent être répartis en deux grands groupes : les flavonoïdes et les non-flavonoïdes (28,30).

Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés polyphénoliques comprenant 15 atomes de carbone formant une structure C₆-C₃-C₆ (**Figure n°01**), soit deux noyaux aromatiques reliés par un pont de 3 carbones. Ce sont les composés les plus abondants parmi tous les composés phénoliques. Ils ont des rôles variés dans les plantes en tant que métabolites secondaires, étant impliqués dans les processus de défense contre les UV (Ultraviolets), la pigmentation, la stimulation des nodules de fixation de l'azote et la résistance aux maladies par exemple (28).

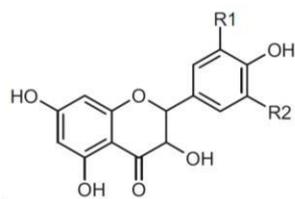


- En bleu ciel, pont 3 carbones ;
- En bleu médian, partie provenant de la voie de l'acide shikimique ;
- En bleu foncé, partie provenant de la voie de l'acétate.

Figure 1. Squelette de base des flavonoïdes (28)

Les flavonols

Les flavonols tels que la myricétine, la quercétine, l'isorhamnétine et le kaempférol sont la plupart du temps présents sous forme d'O-glycosides (**Figure 02**) (28,31).



- R1=H, R2=H, kaempférol
- R1=OH, R2=H, quercétol
- R1=OH, R2=OH, myricétol
- R1=OCH₃, R2=H, isorhamnétol

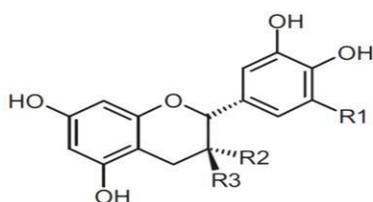
Figure 2. Structure chimique des flavonols (28)

Les flavanones

Les flavanones sont les premiers produits de la voie de synthèse des flavonoïdes. Exemple : l'hésperidine (hésperidine-7-O- rutinoside) (28).

Les flavan-3-ols

Les flavan-3-ols (**Figure 03**) sont la catégorie de flavonoïdes la plus complexe. Exemples : (+)-catéchine et son isomère (-)-épicatéchine, oligomères et polymères de proanthocyanidines (28).



- R1=H, R2=H, R3=OH (+)-Catéchine
- R1=H, R2=OH, R3=H (-)-Epicatéchine
- R1=OH, R2=H, R3=OH (+)-Gallocatéchine
- R1=OH, R2=OH, R3=H (-)-Epigallocatéchine

Figure 3. Structure chimique des flavan-3-ols (28)

Les flavones

Les flavones sont structurellement très proches des flavonols, la différence provenant de l'absence de l'hydroxyle en C3. Les flavones étant principalement sous forme de glucosides (28,32).

Les anthocyanidines

Les anthocyanidines sont largement présentes dans le règne végétal, principalement sous formes de glycosides (Figure 04). Les anthocyanidines les plus courantes sont la pelargonidine, la cyanidine, ladelphinidine, la péonidine et la malvidine (28).

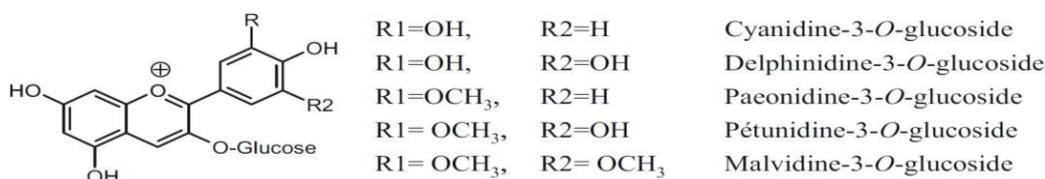


Figure 4. Structure chimique des anthocyanidines (28)

Les non-flavonoïdes

Les phénols simples

Rares à l'état naturel et sont issus de la décarboxylation de l'acide shikimique. Exemples : l'hydroquinol, le pyrocatechol et le phloroglucinol (28).

Les acides phénoliques

Les acides hydroxybenzoïques

Comme exemples on cite : l'acide vanillique, l'acide syringique, l'acide gentisique et l'acide gallique (28).

Les acides hydroxycinnamiques

Les plus communs sont les acides caféique, p-coumarique, férulique et sinapique (28).

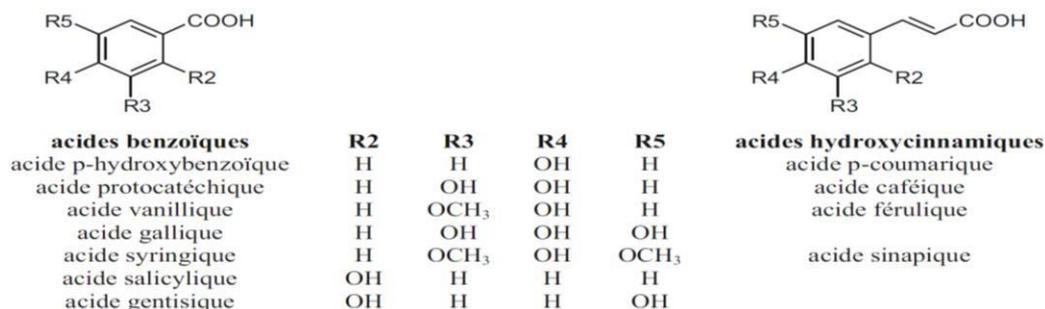


Figure 5. Structure chimique des acides phénoliques (28)

Les stilbènes

Ils sont produits par les plantes en réponse à des attaques fongiques, bactériennes ou virales, ce qui a été démontré pour le trans- resvératrol (28).

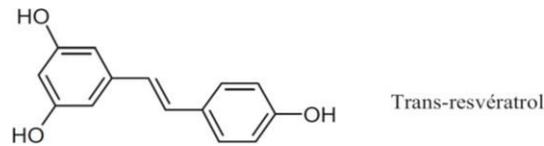


Figure 6. Structure chimique des stilbènes (28)

III. Biodisponibilité des polyphénols

Le métabolisme de plusieurs polyphénols est maintenant bien compris (Figure 7) (33).

Absorption intestinale

La plupart des polyphénols sont présents dans les aliments sous forme d'esters, de glycosides ou de polymères, qui ne peuvent être absorbés sous leur forme native. Ces substances doivent donc être hydrolysées par des enzymes intestinales, telles que les β -glucosidases et la lactase-phlorizine hydrolase, ou par la microflore colique, avant d'être absorbées (34,36).

Mécanismes de conjugaison

Une fois absorbés, les polyphénols sont soumis à la conjugaison : La catéchol-O-méthyl transférase catalyse le transfert d'un groupe méthyle de la S-adenosyl-L-méthionine aux polyphénols (34,37) (le foie et les reins) (34,38,39). Les sulfotransférases catalysent le transfert d'un fragment sulfate du 3' phosphoadénosine-5'-phosphosulfate à un groupe hydroxyle sur divers polyphénols (principalement dans le foie) (34,38,40). Les UDP-glucuronosyltransférases catalysent le transfert d'un acide glucuronique de l'UDP-glucuronique aux polyphénols (dans l'intestin et le foie) (34).

Transport et concentrations plasmatiques

Les métabolites des polyphénols circulent dans le sang liés aux protéines, en particulier l'albumine (34,41,42). Les concentrations de polyphénols atteintes après leur consommation varient fortement en fonction de la nature du polyphénol et de la source alimentaire (34).

Absorption tissulaire

Les polyphénols sont capables de pénétrer dans les tissus, en particulier ceux dans lesquels ils sont métabolisés comme l'intestin et le foie (34).

Excrétion

Les polyphénols et leurs dérivés sont éliminés principalement dans l'urine et la bile (34).

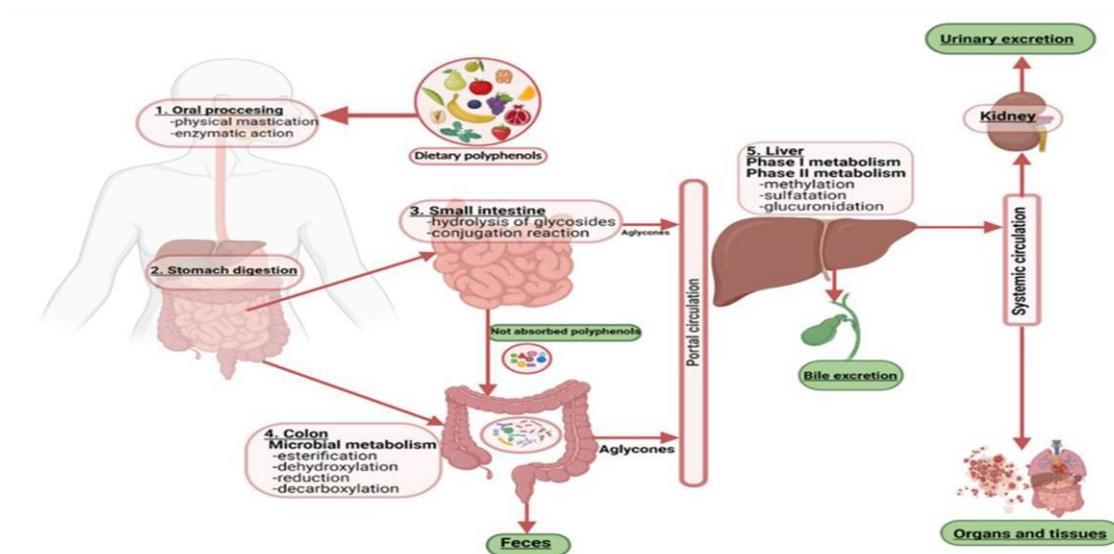


Figure 7. Métabolisme des polyphénols par le microbiote intestinal humain (43)

IV. Biosynthèse des polyphénols

Les composés phénoliques sont issus de deux grandes voies métaboliques : la voie de l'acide shikimique et la voie de l'acétate/malonate.

Voie de l'acide shikimique

Le 3-déhydroshikimate, formé à partir de la condensation du phosphoénolpyruvate avec l'érythrose-4-phosphate, est réduit en shikimate, puis la phosphorylation de ce dernier et sa condensation avec une autre molécule de phosphoénolpyruvate, conduit à la formation du chorismate. Le chorismate occupe une position-clé dans le métabolisme, en particulier dans la formation des acides aminés aromatiques. Les phénylpropanes, tel l'acide cinnamique, sont des métabolites du shikimate susceptibles de se cycliser et d'aboutir à la formation des coumarines, de se dimériser comme dans le cas des lignanes, ou de se polymériser formant alors des lignines. Les flavonoïdes et les stilbènes résultent d'un allongement de la chaîne latérale (figure 8) (44).

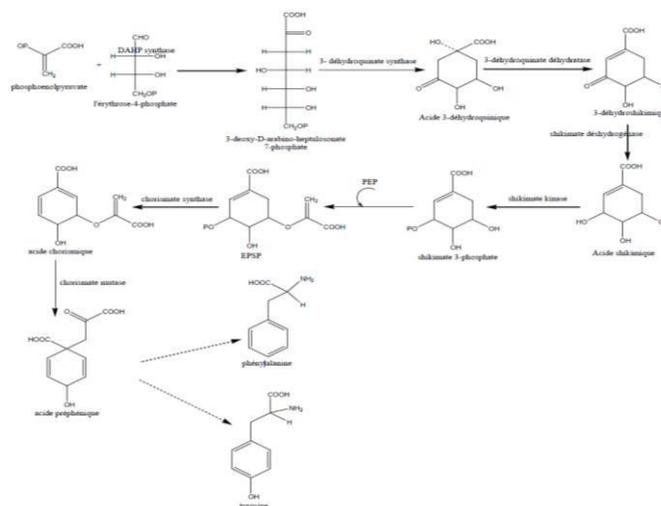


Figure 8. Voie de l'acide shikimique (45)

Voie de l'acétate / malonate

La glycolyse et la β -oxydation aboutissent à la formation de l'acétyl-CoA donnant le malonate. C'est à travers cette voie que s'effectue la cyclisation des chaînes polycétoniques, obtenues par condensation répétée d'unités « Acétate » qui se fait par carboxylation de l'acétyl-CoA. Cette réaction est catalysée par l'enzyme acétyl-CoA carboxylase (44,45).

V. Activités biologiques des polyphénols naturels

Les polyphénols naturels ont montré de nombreuses activités biologiques et des avantages pour la santé dans la prévention et le traitement des maladies liées à l'âge, des cancers, des maladies cardiaques, etc. (Figure 9) (46,47).

Activité antioxydante

- Les activités antioxydantes des polyphénols naturels ont été largement étudiées in vitro et in vivo, y compris le piégeage des radicaux libres, l'inhibition de l'oxydation des lipides, la réduction de la formation d'hydroperoxyde, etc (46,48).
- Leur mécanisme de fonctionnement repose sur le transfert d'atomes H, le transfert d'électrons et l'action de chélation des ions métalliques (46,49,50).
- Ils pourraient aussi être utilisés comme antioxydants conservateurs alimentaires (46,51).

Activité de cardioprotection

Les polyphénols pourraient réduire :

- L'hyperlipémie postprandiale et le stress oxydatif, facteurs de risque bien définis d'athérosclérose (46,52),

- Le risque de thrombose, qui est l'une des principales causes d'infarctus du myocarde, de cardiopathie ischémique, etc. (46,53).

Activité anticancéreuse

Les polyphénols pourraient jouer un rôle important dans la lutte contre le cancer (46).

- Ils modulent l'expression des enzymes du cytochrome P450 impliquées dans l'activation des pro-cancérogènes en carcinogènes
- Ils pourraient protéger l'ADN génomique en mobilisant le cuivre endogène, éventuellement lié à la chromatine (46,54).

Activité anti-inflammatoire

Les polyphénols ont montré des effets significatifs sur l'inflammation et les lésions vasculaires (46,55) par :

- Inhibition des enzymes générant des eicosanoïdes, notamment la phospholipase A2 et la cyclo-oxygénase (46,56).
- Inhibition de la libération de l'oxyde nitrique (NO) en supprimant l'expression des enzymes NOS (Nitric Oxyde synthase) et l'activité NOS (46,57).
- Modulation de certaines cytokines [90] comme l'inhibition du NF-κB (Nuclear Factor-kappa B) (46,58).
- Modulation de la voie MAPK (Mitogen-activated protein kinases) (46,59).

Effet antimicrobien

Les polyphénols :

- Ont démontré des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales potentielles,
- Sont capables de supprimer certains facteurs de virulence microbienne, tels que la réduction de l'adhésion des ligands de l'hôte, l'inhibition de la formation de biofilms, la neutralisation des toxines bactériennes,
- Présentent une synergie avec les antibiotiques (46),
- Peuvent être utilisés pour développer de nouveaux conservateurs alimentaires (46,60).

Effet anti-âge

En raison de l'activité antioxydante notable des polyphénols, ils pourraient :

- Être bénéfiques pour inverser le cours du vieillissement neuronal et comportemental,
- Réduire le risque de maladie de Parkinson,
- Prévenir et traiter une variété de maladies neurodégénératives (46).

Autres bioactivités des polyphénols

Les polyphénols ont montré plusieurs autres effets bénéfiques pour la santé :

- Une réponse protectrice aux dommages cutanés, à l'érythème et à la peroxydation lipidique de l'exposition aux UV,
- Protection des reins (contre la rhabdomyolyse après une injection de glycérol) (46),
- Protection contre les maladies pulmonaires obstructives (46,61),
- Un effet bénéfique -in vivo- sur le métabolisme énergétique dans des maladies telles que l'obésité induite par l'alimentation et la résistance à l'insuline (46),
- Réduction de la morbidité de l'ostéoporose (46,62).

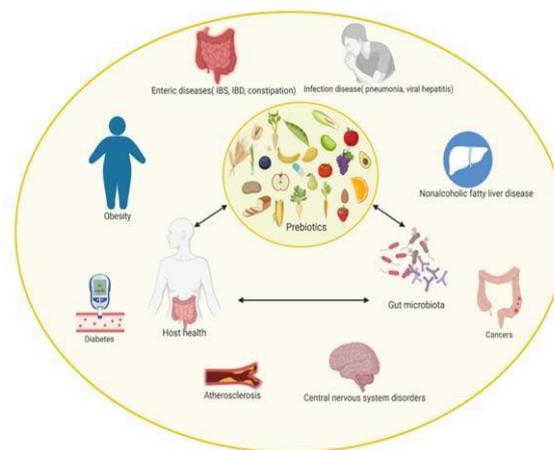


Figure 9. Rôles des polyphénols sur le microbiote intestinal et implications dans la santé humaine (43)

VI. Toxicité potentielle des polyphénols

Ces dernières années, la toxicité potentielle de certains polyphénols a été signalée, comme la catéchine qui endommage l'ADN des cellules de la rate de souris (46,63). De plus, on a constaté que les extraits de raisin favorisaient l'échange de chromatides sœurs induit par la mitomycine C à la concentration de 75 à 300 $\mu\text{g/mL}$ dans les lymphocytes du sang périphérique humain (46,64). Aux mêmes concentrations, la situation de clastogénicité induite par la mitomycine C a été renforcée par un mélange d'acide caféique, d'acide gallique et d'hydrate de rutine. En outre, des effets négatifs notables ont été observés sur des lignées cellulaires de fibroblastes et de kératinocytes après une exposition à une concentration élevée d'épicatéchine pendant 24 heures ou plus. Les résultats indiquent que les effets négatifs des polyphénols étaient liés à l'effet synergique et au temps d'exposition. Par conséquent, la dose et la composition des polyphénols doivent être étudiées plus avant pour une application sûre et saine (46).

Chapitre II : Stratégies et modes d'extraction des polyphénols

VII. Méthodes d'extraction des composés phénoliques

Grâce aux progrès récents des approches chimiques, il existe actuellement une variété de méthodes pour l'extraction, la purification, la quantification et l'identification des polyphénols. Il existe une corrélation positive entre le type de composés phénoliques et les stratégies utilisées pour les extraire des sources naturelles (65).

Les techniques conventionnelles d'extraction comprennent la macération et l'extraction Soxhlet (66) ; ces méthodes sont associées à une consommation élevée de solvants organiques qui limite l'application d'extraits bioactifs en raison de la toxicité des solvants. En outre, l'extraction doit durer longtemps, ce qui implique une consommation d'énergie élevée et un coût supplémentaire (3).

Fondamentalement, il existe cinq méthodes modernes pour l'extraction des polyphénols : l'extraction par solvant ; l'extraction par liquide sous pression, l'extraction assistée par ultrasons ; l'extraction assistée par micro-ondes ; et l'extraction supercritique (65). Le principal objectif de ces méthodes est de réduire le temps d'extraction, la consommation d'énergie et de solvant, et donc le coût final. Un aspect commun de ces technologies est qu'elles sont durables, car elles protègent à la fois l'environnement et la santé des consommateurs et améliorent la compétitivité économique et innovante des industries (3).

Extraction conventionnelle

L'extraction et la concentration conventionnelles des polyphénols à l'aide d'un bain-marie sont généralement réalisées à des températures comprises entre 20 et 50°C, les températures supérieures à 70°C entraînant une dégradation rapide des polyphénols. Le matériel végétal est chauffé lentement afin de permettre une extraction maximale. Lorsque la température augmente, le tissu végétal commence à libérer son contenu interne dans le milieu car la chaleur rend les parois cellulaires perméables, augmentant la solubilité et les coefficients de diffusion des composés à extraire et diminue la viscosité du solvant, facilitant ainsi son passage à travers la masse du substrat solide. Un temps d'extraction plus long donne de meilleurs résultats (66,67).

Extraction assistée par micro-ondes (EAM)

La plupart des plantes contiennent de l'eau en grande quantité, ce qui en fait un moyen d'extraction efficace. Les plantes à faible teneur en eau sont plus longues à chauffer par micro-ondes. La température du matériel végétal chauffé dans un four à micro-ondes ne peut pas dépasser le point d'ébullition de l'eau (100°C). Les molécules d'eau sont polaires mais de

charge inégale. Le rayonnement micro-ondes est constitué de champs oscillants et magnétiques. Les micro-ondes utilisées dans un four à micro-ondes doivent se situer dans la région de la fréquence naturelle des molécules d'eau. Lorsqu'un champ électrique à micro-ondes passe sur une molécule d'eau, les zones positives et négatives des molécules interagissent avec les forces positives et négatives du champ en mouvement. Cela oblige les molécules d'eau à osciller, ce qui entraîne une friction entre les molécules suivie d'un réchauffement (66,68).

Extraction par solvants

L'extraction des polyphénols par solvants est fréquemment utilisée en raison de leur facilité d'utilisation, de leur efficacité et de leur large applicabilité. L'extraction solide-liquide est principalement influencée par la composition du solvant et sa polarité, le temps d'extraction, la température, le pH, le rapport solide-liquide, la composition chimique des échantillons et la taille des particules 24. Une large gamme de solvants comme l'eau, l'acétone, le méthanol, l'éthanol, le N,N-diméthylformamide (DMF) ou leurs mélanges avec l'eau, ont été étudiés pour leur efficacité d'extraction en raison de leurs différences de polarités (66).

Extraction assistée par ultrasons (EAU)

L'extraction assistée par ultrasons se présente comme une alternative durable qui nécessite un investissement modéré en solvant et en énergie. De plus, elle est facile à manipuler, sûre, économique et reproductible car cette technologie permet son développement dans des conditions de pression atmosphérique et à température ambiante (3).

VIII. Extraction assistée par ultrasons

Principe et caractéristiques

Les ultrasons sont basés sur la propagation d'ondes mécaniques, formées par un ensemble de cycles définis comme la combinaison de hautes et de basses pressions, appelées respectivement compressions et raréfactions (3,69).

Les principales caractéristiques des ondes ultrasonores sont les suivantes :

- Longueur : distance entre deux points de compression ou de raréfaction.
- Amplitude : hauteur maximale d'une onde.
- Fréquence (Hz) : nombre de cycles par unité de temps.
- Vitesse (m/s) : produit de la fréquence par la longueur d'onde.
- Puissance (W) : rapport entre l'énergie transportée et le temps considéré.
- Intensité : rapport d'une unité de puissance sur une unité de surface (W/cm^2) (3).

Le spectre des ondes impliquées dans les ultrasons est appelé ondes ultrasonores et les fréquences de ces ondes sont celles situées au-dessus de la gamme audible (>20 kHz) et en dessous des fréquences micro-ondes (jusqu'à 10 MHz). L'amplitude de la fréquence qui est liée à l'effet ultrasonore, c'est-à-dire les fréquences inférieures à 20 à 100 kHz, est dominée par les effets physiques et est couramment utilisée dans les techniques d'analyse non destructives. En revanche, les fréquences de 200 à 500 kHz sont dominées par les effets chimiques (3,70).

L'extraction assistée par ultrasons a pour principale force motrice la cavitation acoustique ; elle est capable d'induire une série de compressions et de raréfactions dans les molécules du solvant présent, provoquant la formation de bulles suite à des changements de température et de pression (Figure 10) (3,71).

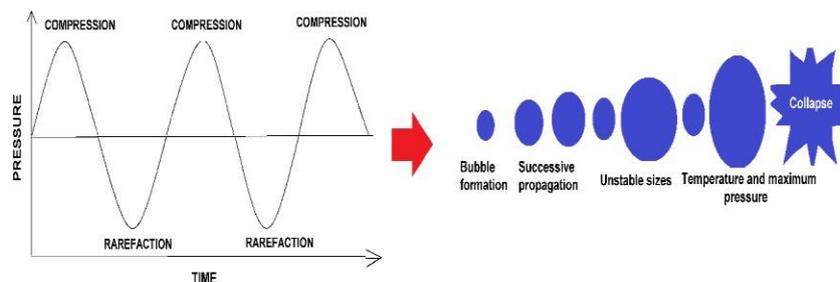


Figure 10. Le principe de la cavitation acoustique (3)

En général, plusieurs mécanismes impliqués dans l'EAU ont été identifiés. L'un des mécanismes est la fragmentation attribuée aux collisions entre les particules et les ondes ultrasonores, qui entraînent une réduction de la taille des particules, facilitant ainsi le transfert de masse. Un autre mécanisme est l'érosion qui permet d'améliorer l'accessibilité du solvant en implosant les bulles à la surface de la matrice végétale. La sono-capillarité et la sonoporation, sont capables d'améliorer la pénétration du liquide à travers les canaux produits par l'implosion des bulles et l'altération de la perméabilité des membranes cellulaires, respectivement. Enfin, le mécanisme de contrainte de cisaillement produit l'effondrement de la bulle de cavitation dans le fluide, en raison du phénomène d'oscillation (Figure 11) (3,66,71).

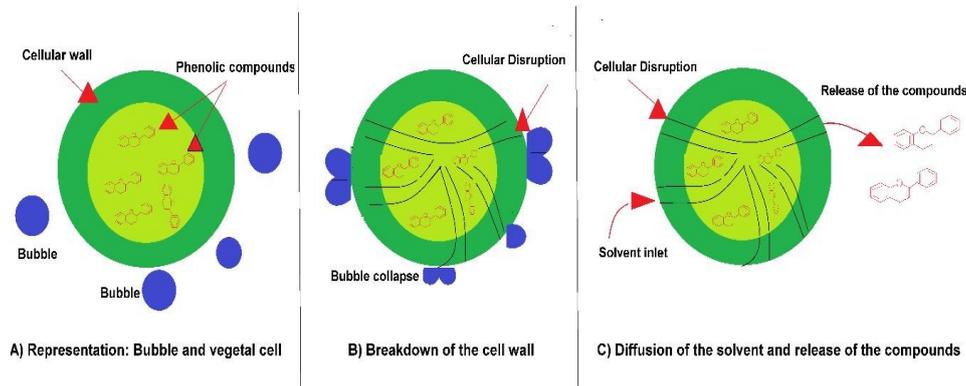


Figure 11. Représentation graphique de l'effondrement de la bulle de cavitation et de la libération du matériel végétal en trois étapes. (A) Représentation de la bulle et de la cellule végétale, (B) Rupture de la paroi cellulaire et effondrement de la bulle, enfin (C) Diffusion du solvant à travers la rupture cellulaire et libération des composés (3)

L'irradiation par ultrasons peut être appliquée de deux manières : par contact direct avec l'échantillon ou à travers les parois où l'échantillon est contenu (indirectement) comme les systèmes de bains à ultrasons. Le principal inconvénient du bain à ultrasons est qu'il fonctionne généralement à une seule fréquence (20 ou 40 kHz). Il existe cependant des systèmes d'extraction plus efficaces, comme le système à ultrasons couplé à une sonde (**Figure 12**), dont le contact direct avec l'échantillon lui permet de développer une puissance jusqu'à 100 fois supérieure à celle fournie par le bain à ultrasons (3).

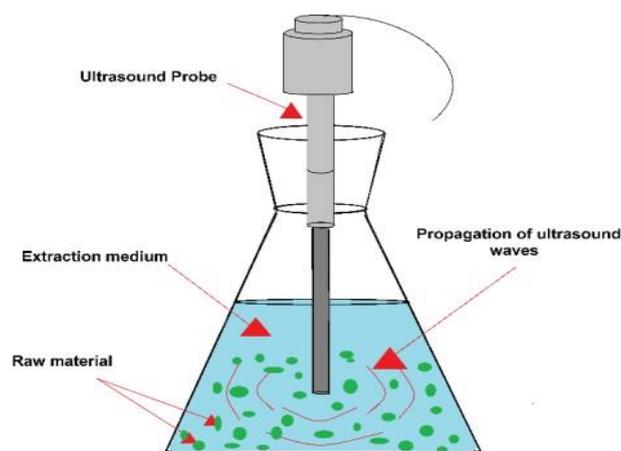


Figure 12. Représentation d'un système à ultrasons couplé à une sonde (3)

Les variables impliquées dans l'efficacité de l'EAU des polyphénols

Au cours de l'EAU, certaines variables sont directement liées à l'efficacité et au rendement de l'extraction, comme :

- La manière dont l'irradiation par ultrasons est appliquée (directement ou indirectement), et
- La fréquence ultrasonore,
- La puissance acoustique,
- Les conditions d'extraction :
 - Le temps,
 - Les concentrations utilisées,
 - La nature du solvant,
 - La température (3),
 - La pression du milieu,
 - La présence de gaz dissous (71).

Applications des ultrasons

La diversité des équipements ultrasons et leurs actions offre un large éventail d'applications telles que :

- L'émulsification,
- La cristallisation,
- La cinétique des réactions,
- Les fermentations,
- L'inactivation des microorganismes et
- L'extraction des composés (les arômes, les antioxydants, les huiles essentielles, les métaux et les colorants) (3,71).

Le tableau ci-dessous compare l'EAU avec les autres méthodes d'extraction conventionnelles et modernes (**Tableau I**).

IX. Les techniques de séparation et d'identification structurale des polyphénols

Les principales techniques de séparation et d'identification des polyphénols sont les suivantes :

- Méthodes spectrophotométriques,
- Chromatographie liquide haute performance (CLHP) en phase inverse couplée à un détecteur à barrettes de diodes (DAD) et/ou à un détecteur de spectrométrie de masse (LC-MS),
- Chromatographie en phase gazeuse (GC),
- Analyse sur colonne en phase normale,
- Chromatographie liquide à ultra-haute performance (U-HPLC ou UPLC) (24).

Les stratégies et méthodes d'extraction, de purification, de quantification et d'identification des polyphénols sont résumées dans la figure ci-dessous (**Figure 13**).

Tableau I. Principales caractéristiques, avantages et inconvénients des technologies d'extraction nouvelles et conventionnelles (3)

Caractéristique	Nouvelle technologie d'extraction			Méthodes conventionnelles		
	EAU	EAM	Fluides supercritiques	Extraction accélérée par solvants	Agitation mécanique	Soxhlet
Force motrice	Cavitation acoustique	Puissance des micro-ondes	Pression en conjonction avec un fluide supercritique	Chaleur conjointement avec le solvant sous pression	Contact avec les solvants	Chaleur
Temps d'extraction	10-60 min	3-30 min	10-60 min	10-20 min	Plusieurs heures	6-24 h
Taille de l'échantillon	1-30 g	1-10 g	1-5 g	1-30 g	1-30 g	1-30 g
Quantité de solvant	50-200 mL	10-40 mL	30-60 mL	15-60 mL	Grand volume	150-500 mL
Puissance appliquée	Modérée	Élevée	Modérée	Modérée	Élevée	Élevée
Avantages	Facile à manipuler, sûre (P_{atm} et T_{amb}), utilisation modérée de solvant, reproductible	Rapide, facile à manipuler, utilisation modérée de solvant	Rapide, sûre, sans filtrage nécessaire, haute sélectivité	Rapide, sûre, sans filtrage nécessaire	Pas d'utilisation d'équipement sophistiqué	Pas d'utilisation d'équipement sophistiqué
Inconvénients	Étape de filtration requise, possibilité de dégradation des composés à hautes fréquences	Risque d'explosion (le solvant doit absorber la puissance des micro-ondes), coûteux, nécessite une étape de filtration	De nombreux paramètres à optimiser	Dégradation possible des composés thermolabiles	Risque de déversement et exposition à vapeurs organiques, dégradation des composés thermolabiles, étape de filtration requise	Risque d'exposition aux vapeurs organiques, dégradation des composés thermolabiles

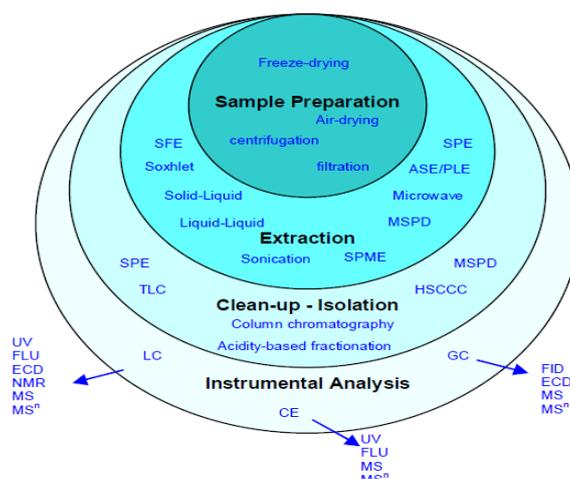


Figure 13. Schéma des stratégies de détermination des acides phénoliques et des flavonoïdes dans les fluides biologiques, les boissons, les plantes et les aliments (24)

Chapitre 3 : Ressources en polyphénols naturels

X. Principales sources en polyphénols :

Les polyphénols naturels sont présents de façon ubiquitaire dans le règne végétal (**Tableau II**) (27), ils ont été trouvés dans de nombreuses plantes et aliments, tels que les fruits, les légumes, le thé, les céréales, les plantes médicinales, les microalgues et les fleurs comestibles et sauvages (72,73). L'évaluation de certains fruits comestibles et sauvages a révélé que le raisin, l'olive, la myrtille, la grenadille, la mangue et les agrumes contenaient des teneurs élevées en polyphénols. Les légumes sont des sources importantes de l'alimentation quotidienne et sont riches en polyphénols. Les contenus phénoliques les plus élevés ont été trouvés dans le bourgeon de toon chinois, la salicaire, le niébé, le carvi, la racine de lotus, la feuille de patate douce, la fève de soja (verte), la feuille de poivron, la feuille de ginseng, la ciboulette et le brocoli. En outre, les régimes méditerranéens sont associés à un risque réduit de maladies cardiovasculaires en raison d'une consommation adéquate d'huile d'olive qui contient des teneurs élevées en polyphénols. Les céréales pigmentées, telles que le riz noir, le riz rouge et le riz pourpre, possèdent un contenu phénolique total élevé. *Salvia miltiorrhiza* Bge. (danshen), *Polygonum multiflorum* Thunb. (tige) (renouée fleurie), *Rhodiola sacra* Fu (hongjingtian), *Fraxinus rhynchophylla* Hance (frêne), et *Prunus persica* (Linn) Batsch. (pêche) ont montré des teneurs élevées en polyphénols naturels parmi les plantes médicinales. On a constaté que *Rosa rugosa* (rose), *Limonium sinuatum* (myosotis), *Pelargonium hortorum* (géranium), *Jatropha integerrima* (peregrina) et *Osmanthus fragrans* (osmanthe) contenaient beaucoup de polyphénols naturels parmi les fleurs comestibles et sauvages. En outre, la teneur en polyphénols varie considérablement selon le génotype, le cultivar, le moment de la récolte et même selon qu'il s'agit de produits biologiques ou conventionnels (46).

Tableau II. Les principales sources végétales des polyphénols (73)

	Source (taille de la portion)	Teneur en polyphénols en poids ou en volume (mg/kg de poids frais (ou mg/L))
Acides hydroxybenzoïques	Mûre (100 g)	80-270
Acide protocatéchique	Framboise (100 g)	60-100
Acide gallique	Cassis (100 g)	40-130
Acide <i>p</i> -Hydroxybenzoïque	Fraise (200 g)	20-90
Acides hydroxycinnamiques	Myrtille (100 g)	2000-2200
Acide caféïque	Kiwi (100 g)	600-1000
Acide chlorogénique	Cerise (200 g)	180-1150
Acide coumarique	Prune (200 g)	140-1150
Acide férulique	Aubergine (200 g)	600-660
Acide sinapique	Pomme (200 g)	50-600
	Poire (200 g)	15-600
	Chicorée (200 g)	200-500
	Artichaut (100 g)	450
	Pomme de terre (200 g)	100-190
	Farine de maïs (75 g)	310
	Farine : blé, riz, avoine (75 g)	70-90
	Cidre (200 mL)	10-500
	Café (200 mL)	350-1750
Anthocyanines	Aubergine (200 g)	7500
Cyanidine	Mûre (100 g)	1000-4000
Pelargonidine	Cassis (100 g)	1300-4000
Peonidine	Myrtille (100 g)	250-5000
Delphinidine	Raisin noir (200 g)	300-7500
Malvidine	Cerises (200 g)	350-4500
	Rhubarbe (100 g)	2000
	Fraise (200 g)	150-750
	Prune (200 g)	20-250
	Chou rouge (200 g)	250
Flavonols	Oignon jaune (100 g)	350-1200
Quercétine	Chou frisé (200 g)	300-600
Kaempferol	Poireau (200 g)	30-225
Myricétine	Tomate cerise (200 g)	15-200
	Brocoli (200 g)	40-100
	Myrtille (100 g)	30-160
	Cassis (100 g)	30-70
	Abricot (200 g)	25-50
	Pomme (200 g)	20-40
	Haricots verts ou blancs (200 g)	10-50
	Raisin noir (200 g)	15-40
	Tomate (200 g)	2-15
	Infusion de thé noir (200 mL)	30-45
	Infusion de thé vert (200 mL)	20-35
Flavones	Persil (5 g)	240-1850
Apigénine	Céleri (200 g)	20-140
Lutéoline	Poivron (100 g)	5-10
Flavanones	Jus d'orange (200 mL)	215-685
Hespéridine	Jus de pamplemousse (200 mL)	100-650
Naringénine	Jus de citron (200 mL)	50-300

Isoflavones	Farine de soja (75 g)	800-1800
Daidzéine	Fèves de soja, bouillies (200 g)	200-900
Genistéine	Miso (100 g)	250-900
Glycitéine	Tofu (100 g)	80-700
	Tempeh (100 g)	430-530
	Lait de soja (200 mL)	30-175
Flavanols monomériques	Chocolat (50 g)	460-610
Catéchine	Haricots (200 g)	350-550
Epicatéchine	Abricot (200 g)	100-250
	Cerise (200 g)	50-220
	Raisin (200 g)	30-175
	Pêche (200 g)	50-140
	Mûre (100 g)	130
	Pomme (200 g)	20-120
	Thé vert (200 mL)	100-800
	Thé noir (200 mL)	60-500
	Vin rouge (100 mL)	80-300
Cidre (200 mL)	40	

XI. Filao (*Casuarina equisetifolia*)

Les arbres *Casuarina* (**Figure 14**) sont originaires d'Australie, d'Asie du Sud-Est et des îles du Pacifique. En raison de leur importance économique et écologique, ils ont été introduits dans plus de 100 pays du monde entier. Le genre *Casuarina* comprend environ 14 espèces (19 taxons) (**74**).

Ce sont des arbustes ou de grands arbres à feuilles persistantes, monoïques ou dioïques, qui ressemblent aux conifères par leur port et leur forme, leurs feuilles en forme d'aiguille et leurs fruits ligneux en forme de cône. Malgré cette ressemblance qui les faisait considérer dans le passé comme des gymnospermes, ils constituent un groupe d'angiospermes dicotylédones (Eudicots) classées dans l'ordre des Fagales et le groupe des Rosidés tel que défini par la APG IV (**74,75**).

Les casuarinas sont des espèces pionnières capables de coloniser et d'enrichir des sols pauvres et des sites stériles, jouant ainsi un rôle particulièrement important dans la succession écologique.

Les casuarinas ont été introduits en Algérie dans la première moitié du 19^{ème} siècle (vers 1835) et sont devenus aujourd'hui un élément fondamental de la flore ligneuse dans toutes les zones bioclimatiques de l'Algérie (**74**).



Figure 14. L'arbre Filao (*Casuarina equisetifolia*) (76)

XII. Cyprès (*Tetraclinis articulata*)

Le thuya de Berbérie, *Tetraclinis articulata* (Vahl) Master, espèce résineuse, thermoxérophile, de la famille des Cupressacées, constitue un élément important dans la végétation forestière nord-africaine puisqu'il couvre plus d'un million d'hectare (77,78). En Algérie, le thuya couvrait une surface de 160 000 ha, il occupait la 4^{ème} position après le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (77).

Le thuya (**Figure 15**) est un résineux à feuillage léger et persistant. Dans sa jeunesse, son port est pyramidal ; les feuilles sont réduites en écailles opposées et imbriquées par deux, les fleurs en chaton, situées à l'extrémité des rameaux. Le fruit est un cône d'allure cubique s'ouvrant par quatre valves sous l'effet de la chaleur, libérant ainsi six graines ailées (77).

Tetraclinis articulata est une essence monoïque, qui dépasse rarement 6 à 8 m de hauteur et atteint 30 cm en diamètre en moyenne. Quelques vieux sujets, jusqu'à 20 m de haut pour 1 m de diamètre ont été observés, mais cela reste très rare (77,79).

L'arbre fleurit en automne (octobre) et fructifie l'été suivant (juin, juillet). Cette fructification démarre vers l'âge de 15 ans et se poursuit jusqu'à un âge très avancé. L'ouverture des cônes, qui reste comme pour beaucoup d'espèces conditionnées par la chaleur, n'a lieu qu'à la fin de l'été (77).



Figure 15. Les différents organes du thuya. De gauche à droite : aiguilles, cônes, écorce (77)

XIII. Son du blé

Le « blé » est un terme générique qui désigne plusieurs céréales appartenant au genre *Triticum*. Ce sont des plantes annuelles, monocotylédones appartenant à l'ordre des Poales et de la famille des graminées, cultivées dans de très nombreux pays. Dans le langage courant, le terme « blé » désigne également le grain (caryopse) produit par ces plantes (80).

Le son du blé (**Figure 16**) est obtenu au cours des opérations de transformation du blé en farine blanche destinée à l'alimentation humaine. Le son est particulièrement constitué du tégument externe du grain (enveloppes restantes des grains) (80,81).

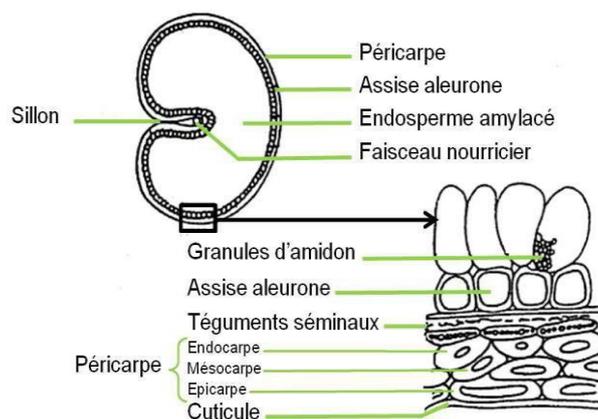


Figure 16. Structure anatomique de Son du blé (80)

PARTIE PRATIQUE

Matériel et méthodes

I. Les objectifs de l'étude

Les objectifs de cette étude sont d'étudier l'efficacité de l'EAU des polyphénols de certaines matrices végétales de la région de Tlemcen et d'optimiser les conditions opérationnelles (type de solvant, puissance ultrasonique, température, temps de sonication ainsi que le rapport liquide-solide) pour maximiser le rendement d'extraction de ces composés phénoliques.

II. Le type de l'étude

Il s'agit d'une étude expérimentale analytique.

III. Le lieu de l'étude

Cette étude s'est déroulée au niveau du Laboratoire des Technologies de Séparation et de Purification (LTSP)-Tlemcen.

IV. La période de l'étude

Cette étude s'est étalée sur une durée de 3 mois, de Mars jusqu'au mois de Mai de l'année 2022.

V. Le matériel végétal étudié

Les matrices végétales utilisées pour la réalisation de cette étude sont : Filao (*Casuarina equisetifolia*), Cyprès (*Tetraclinis articulata*), et le son du blé (Fibre).

Filao (*Casuarina equisetifolia*)

Les pins de Filao (*Casuarina equisetifolia*) ont été récoltés en pleine maturité durant le mois d'octobre de l'année 2021 dans la région de Maghnia, Ouest de la Wilaya de Tlemcen.

- Préparation du matériel végétal

Les pins ont été lavés avec de l'eau distillée, ensuite séchés. Le séchage a été réalisé dans une étuve ventilée à 60°C pendant 24 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

Les pins séchés ont été broyés à l'aide d'un broyeur, ensuite tamisés dans un tamiseur en vue d'obtention d'une poudre fine dont le diamètre est de 200 µm.

La poudre obtenue (**Figure 17**) a été conservée dans un flacon en verre à température ambiante à l'abri de la lumière et d'humidité jusqu'à son utilisation.



Figure 17. Poudre de Filao (*Casuarina equisetifolia*)

Cyprès (*Tetraclinis articulata*)

Les feuilles de Cyprès (*Tetraclinis articulata*) ont été récoltées au mois d'octobre de l'année 2021 dans la région de Tlemcen ville.

- Préparation du matériel végétal

- Les feuilles sont lavées et nettoyées à l'eau distillée puis séchées dans une étuve ventilée à 60°C pendant 24 heures jusqu'à l'obtention d'un poids constant.
- Le matériel végétal séché a été ensuite broyé à l'aide d'un broyeur et tamisé dans un tamiseur en vue d'obtenir un broyat fin dont le diamètre des particules est égal à 200 µm.
- La poudre obtenue (**Figure 18**) a été conservée dans un flacon en verre à température ambiante à l'abri de la lumière et de l'humidité jusqu'à son utilisation.



Figure 18. Poudre de Cyprès (*Tetraclinis articulata*)

Son du blé (fibre)

Le son du blé a été acheté chez un herboriste du centre-ville de Tlemcen (**Figure 19**).

Il a été conservé dans un sachet en plastique scellé et stocké à température ambiante à l'abri de l'humidité et de la lumière jusqu'à son utilisation.



Figure 19. Son du blé (fibre)

VI. Réactifs et appareillage

Les réactifs utilisés

Les réactifs et les solvants utilisés pour la réalisation de cette étude sont : Méthanol, Éthanol, Chloroforme, Benzène, Tétrachlorure de carbone, *n*-Heptane, Propanol-(2), Carbonate de sodium, Chlorure d'aluminium, Nitrite de sodium, Hydroxyde de sodium, Réactif de Folin Ciocalteu, Acide gallique et Catéchine fournis par Sigma-Aldrich®.

L'appareillage utilisé

La verrerie utilisée pour la réalisation de ce travail est celle disponible au niveau du laboratoire et les appareils employés comprenaient :

- Balance de précision,
- Spectrophotomètre,
- Bain à ultrason : L'extraction assistée par ultrasons a été réalisée dans un dispositif de bain à ultrasons (modèle WUC-D10H, ch DAIHAN Scientific Digital Ultrasonic Cleaner) (**Figure 20**). Le bain consistait en un récipient rectangulaire avec des transducteurs de 40 kHz recuits sur le fond. Les principales caractéristiques du bain à ultrason utilisé sont regroupées dans le tableau ci-dessous (**Tableau III**) (**82**).

Tableau III. Caractéristiques du bain à ultrason WUC-D10H (82)

Modèle	WUC-D10H
Numéro de pièce	DH.WUC.D10H
Capacité	10 Litres
Fréquence	40 kHz
Haute Fréquence-Entrée	407 W
Température de chauffage	De la T° ambiante jusqu'à 80°C
Puissance thermique	258 W
Minuteur	0-60 minutes
Affichage	FND
Vanne de vidange	1/2" NPT
Taille du réservoir intérieur (wxdxh) (mm)	290x240x150
Poids	8 kg
Dimensions de l'emballage (wxdxh) (cm)	440x320x360
Poids brut	8,5 kg
Consommation d'énergie	665 W
Besoins en électricité	1 Phase, AC 230 V, 50/60 Hz



Figure 20. Bain à ultrason WUC-D10H

VII. Déroulement de l'étude

Dans la présente recherche, les variables expérimentales étudiées sont : le temps d'extraction (cinétique), la puissance de la radiation ultrasonore, l'effet du solvant et l'effet de la masse de la matrice végétale.

L'étude de l'extraction assistée par ultrasons des composés phénoliques contenus dans les matrices végétales choisies s'est déroulée comme suit :

Effet du solvant sur l'EAU des polyphénols de Filao (*Casuarina equisetifolia*)

1. Une série de 4 tubes à vis en verre (20 mL) a été constituée après nettoyage, séchage et numérotation de ces tubes ;
2. Une quantité de 0,1 g de la poudre de Filao (*Casuarina equisetifolia*) a été pesée dans une balance de précision (OHAUS® Pioneer™) et introduite dans chaque tube à vis en verre et mélangée avec un volume de 5 mL de méthanol ;
3. Les 4 tubes contenant les suspensions et placés dans un portoir pour tubes ont été immergés dans l'eau de l'appareil à ultrasons puis irradiés à 60 % pendant une durée d'extraction de 5, 15, 30 et 60 minutes respectivement ;
4. Une fois l'extraction terminée, les extraits obtenus ont été filtrés dans des tubes à hémolyse en utilisant un papier filtre Whatman n°1 placé sur un entonnoir ;
5. Les extraits filtrés ont été versés dans des cuves et analysés dans un spectrophotomètre (HACH LANGE DR 5000™) ; les absorbances ont été lues dans le domaine de l'UV-Visible à des longueurs d'onde oscillant entre 200 et 800 nm contre un blanc à base de méthanol.

L'extraction des polyphénols de Filao a été reproduite en suivant exactement les mêmes étapes expérimentales avec d'autres solvants d'extraction choisis selon leur polarité (soit polaire, soit apolaire) à savoir :

- 1) L'éthanol,
- 2) Le chloroforme,
- 3) Le cyclohexane,
- 4) Le benzène,
- 5) Le tétrachlorure de carbone,
- 6) Le *n*-Heptane,
- 7) Le propanol-(2).

Le tableau ci-dessous (**Tableau IV**) récapitule la procédure suivie.

Tableau IV. Étude de l'effet du solvant sur l'extraction ultrasonique des polyphénols de Filao (*Casuarina equisetifolia*)

Matrice	Masse (g)	Solvant	Volume (mL)	Temps (min)	Radiation (%)	
Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>)	0,1	Méthanol	5	5	60	
				15		
				30		
				60		
	0,1	Éthanol	5	5	5	60
					15	
					30	
					60	
	0,1	Chloroforme	5	5	5	60
					15	
					30	
					60	
	0,1	Cyclohexane	5	5	5	60
					15	
					30	
					60	
	0,1	Benzène	5	5	5	60
					15	
					30	
					60	
	0,1	Tétrachlorure de carbone	5	5	5	60
					15	
					30	
					60	
	0,1	<i>n</i> -Heptane	5	5	5	60
					15	
					30	
					60	
0,1	Propanol-(2)	5	5	5	60	
				15		
				30		
				60		

Effet de la masse sur l'EAU des polyphénols des matrices végétales étudiées**Filao (*Casuarina equisetifolia*)**

1. Deux séries comportant chacune 5 tubes à vis en verre ont été constituées après nettoyage, séchage et numérotation des tubes ;
2. Des quantités de 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,3 et 0,5 g de la poudre de Filao (*Casuarina equisetifolia*) ont été pesées dans une balance de précision (OHAUS® Pioneer™) et introduites dans les tubes de la première série respectivement ;
3. Un volume de 5 mL de cyclohexane a été prélevé à l'aide d'une pipette et introduit dans chaque tube de la première série ;

4. Des quantités de 0,01 ; 0,05 ; 0,1 ; 0,3 et 0,5 g de la poudre de Filao (*Casuarina equisetifolia*) ont été pesées dans une balance de précision (OHAUS® Pioneer™) et introduites dans les tubes de la deuxième série respectivement ;
5. Un volume de 5 mL de chloroforme a été prélevé à l'aide d'une pipette et introduit dans chaque tube de la deuxième série ;
6. Les 10 tubes contenant les suspensions et placés dans un portoir pour tubes ont été immergés dans l'eau de l'appareil à ultrasons puis irradiés à 20 % pendant une durée d'extraction de 30 minutes ;
7. Les températures affichées sur l'écran de l'appareil à ultrasons, en amont puis en aval de l'extraction, ont été notées ;
8. Une fois l'extraction terminée, les extraits obtenus ont été filtrés dans des tubes à hémolyse en utilisant un papier filtre Whatman n°1 placé sur un entonnoir ;
9. Les extraits filtrés ont été versés dans des cuves et analysés dans un spectrophotomètre (HACH LANGE DR 5000™) ; les absorbances ont été lues dans le domaine de l'UV-Visible à des longueurs d'onde oscillant entre 200 et 800 nm contre un blanc à base de cyclohexane pour les extraits de la première série et de chloroforme pour les extraits de la deuxième série.
10. L'extraction des polyphénols de Filao a été reproduite suivant les mêmes étapes expérimentales en fixant la radiation à :
 - 1) 40 %,
 - 2) 60 %,
 - 3) 80 %,
 - 4) 100 %.

Cyprès (*Tetraclinis articulata*)

L'extraction assistée par ultrasons des polyphénols de la matrice végétale Cyprès (*Tetraclinis articulata*) a été effectuée en suivant le même protocole expérimental que celui adopté avec Filao (*Casuarina equisetifolia*).

Son du blé (fibre)

L'extraction assistée par ultrasons des polyphénols du son du blé (fibre) a été effectuée en suivant le même protocole expérimental que celui adopté avec Filao (*Casuarina equisetifolia*).

Les tableaux ci-dessous récapitulent les procédures suivies.

Tableau V. Étude de l'effet de masse sur l'extraction ultrasonique des polyphénols de Filao (*Casuarina equisetifolia*)

Matrice végétale	Masse (g)					Solvant	Volume (mL)	Temps (min)	Radiation (%)
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5				
Filao (<i>Casuarina equisetifolia</i>)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	20
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	40
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	60
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	80
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	100
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		

Tableau VI. Étude de l'effet de masse sur l'extraction ultrasonique des polyphénols du Cyprès (*Tetraclinis articulata*)

Matrice végétale	Masse (g)					Solvant	Volume (mL)	Temps (min)	Radiation (%)
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5				
Cyprès (<i>Tetraclinis articulata</i>)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	20
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	40
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	60
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	80
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	100
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		

Tableau VII. Étude de l'effet de masse sur l'extraction ultrasonique des polyphénols du son du blé (fibre)

Matrice végétale	Masse (g)					Solvant	Volume (mL)	Temps (min)	Radiation (%)
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5				
Son du blé (fibre)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	20
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	40
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	60
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	80
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Cyclohexane	5	30	100
	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	Chloroforme	5		

Analyse quantitative des composés phénoliques

Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols a été réalisé par la méthode colorimétrique du Folin-Ciocalteu, utilisant l'acide gallique comme contrôle positif.

Principe du dosage

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide jaune constitué d'un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_{40}$). Il est réduit lors de l'oxydation des phénols en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène. La coloration produite à $\lambda = 750$ nm est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux (83).

Mode opératoire

Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère étalon d'acide gallique par une série de dilution avec des concentrations allant de 100 à 500 mg/mL.

Dans une série de tubes, 2 mL d'une solution de carbonate de sodium à 2 % fraîchement préparée sont additionnés à 0,1 mL de chaque solution étalon. Le mélange est agité au vortex et après 5 minutes, 100 μ L du réactif de Folin-Ciocalteu (1N) sont introduits dans chaque tube. Ces tubes sont incubés pendant 30 minutes à l'obscurité et à température ambiante. Ensuite, la lecture des absorbances maximales est effectuée à 750 nm au spectrophotomètre contre un blanc (eau distillée traitée avec les mêmes réactifs que les solutions étalons) (84). Enfin, la courbe d'étalonnage est construite à l'aide du logiciel Origin 2019.

Dosage des flavonoïdes

Principe du dosage :

Les flavonoïdes totaux sont dosés par colorimétrie en utilisant le trichlorure d'aluminium $AlCl_3$ avec lequel ils forment des complexes acides stables soit avec le carbonyle (C=O) en position C-4, soit avec le groupe hydroxyle en C-3 ou C-5 des flavones et des flavonols. Par ailleurs, l' $AlCl_3$ peut également former des complexes acides labiles avec les groupements orthodihydroxyles éventuellement présents sur le noyau A et/ou B des flavonoïdes (85).

Mode opératoire :

Une gamme d'étalonnage a été préparée à partir d'une solution mère étalon de catéchine par une série de dilution avec des concentrations allant de 5 à 50 mg/mL.

Dans une série de tubes, 500 μ L de chaque solution étalon sont mélangés avec 2 mL d'eau distillée et 150 μ L d'une solution de nitrite de sodium ($NaNO_2$) à 15 %. Après 6

minutes, 150 μL de chlorure d'aluminium ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 10 % sont ajoutés au mélange qui sera incubé pendant 6 minutes. Ensuite, 2 mL d'hydroxyde de sodium à 4 % sont introduits dans chaque tube et le volume final est complété à 5 mL par de l'eau distillée. Après 15 minutes, la lecture est effectuée au spectrophotomètre à 510 nm contre un blanc (85).

Expression des résultats

- Les résultats des polyphénols sont exprimés en mg d'acide gallique par millilitre d'eau.
- Les résultats des flavonoïdes sont exprimés en mg de catéchine par millilitre d'eau.

Détermination du rendement

Les rendements en polyphénols et en flavonoïdes sont calculés à partir des courbes d'étalonnage de l'acide gallique et de la catéchine respectivement.

$Y = a \times X$; la relation mathématique depuis le courbe d'étalonnage,

$C_m = \text{Abs} \times a$; C_m : concentration massique (mg/mL) ; Abs : Absorbance,

$m_a = C_m \times V$; m_a : masse absorbée (mg),

$Q = m_a / m_i$; m_i : masse d'échantillon ; Q : La quantité extraite (mg/g).

VIII. Analyse des données

Les données ont été saisies puis analysées par le logiciel Origin version 2019.

IX. Spectres d'absorption en UV-visible

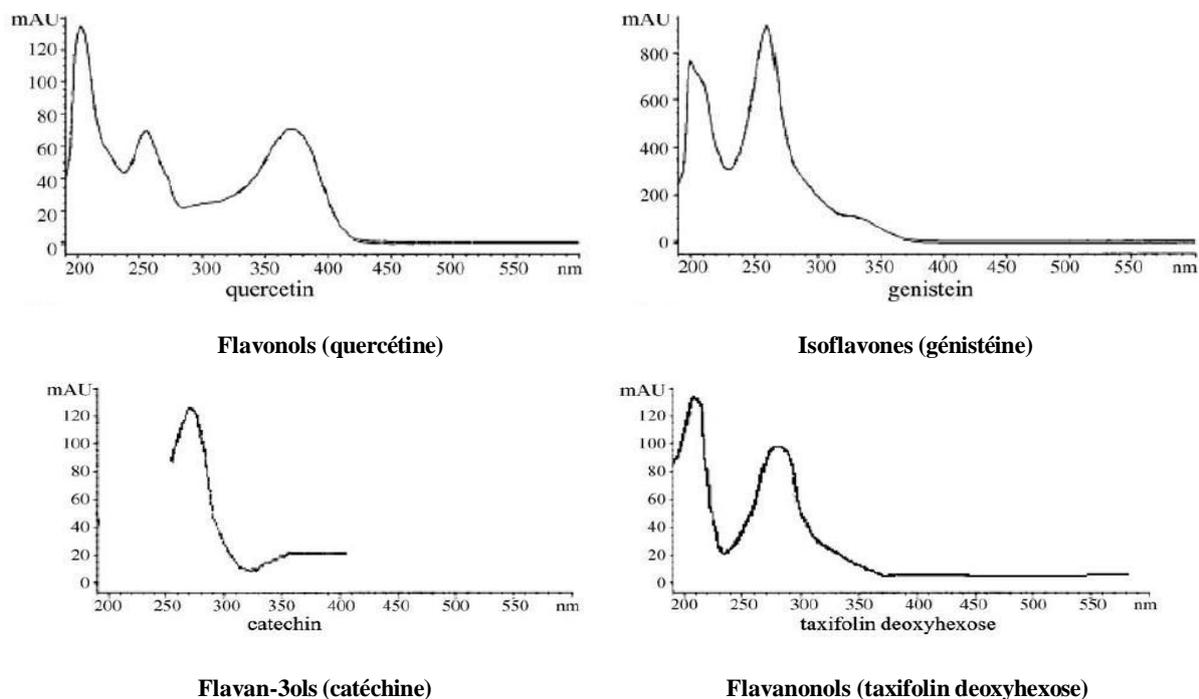


Figure 21. Spectres d'absorption des classes de flavonoïdes avec un exemple pour chacune (86)

Résultats & Discussion

I. Introduction

Dans le présent chapitre nous nous focalisons sur les principaux résultats obtenus et leurs interprétations. Les biosorbants étudiés sont au nombre de trois : le Filao, le Cyprès et le son du blé (fibre). Une étude comparative entre ces derniers a été menée.

II. Effets du solvant et du temps

Nous avons testé divers solvants pendant des temps variés donnés dans le **Tableau IV** (partie expérimentale). Les résultats obtenus nous ont permis de conclure que le cyclohexane (solvant apolaire) et le chloroforme (solvant polaire) donnent les meilleurs résultats de l'EAU pour une durée de 30 minutes et une radiation de 60 %.

III. Effets de masse et de solvant pour différentes radiations

L'étude de l'effet de masse à différentes radiations a été menée en utilisant l'acide gallique comme contrôle positif de polyphénols et la catéchine comme contrôle positif des flavonoïdes.

Deux solvants sont utilisés pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes : le cyclohexane (solvant apolaire) et le chloroforme (solvant polaire) dans le but de comparer l'effet de polarité du solvant d'extraction.

Les masses utilisées sont situées dans l'intervalle [0,01 g - 0,5 g] et le volume pour les deux solvants est fixé à $V = 5 \text{ mL}$.

Courbes d'étalonnage

Dans le domaine des concentrations étudiées, les courbes obtenues suivent la loi de Beer-Lambert (**Figures 23 & 25**).

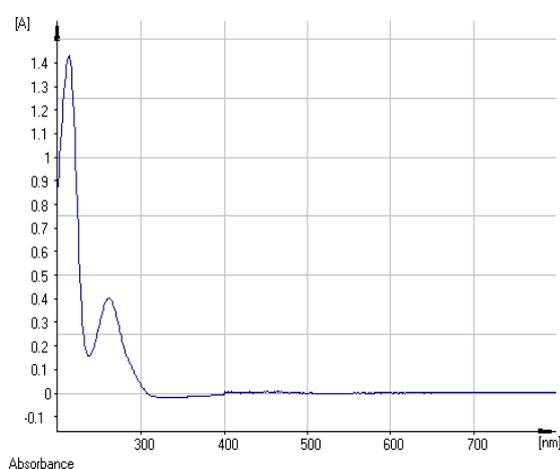


Figure 22. Spectre de l'acide Gallique

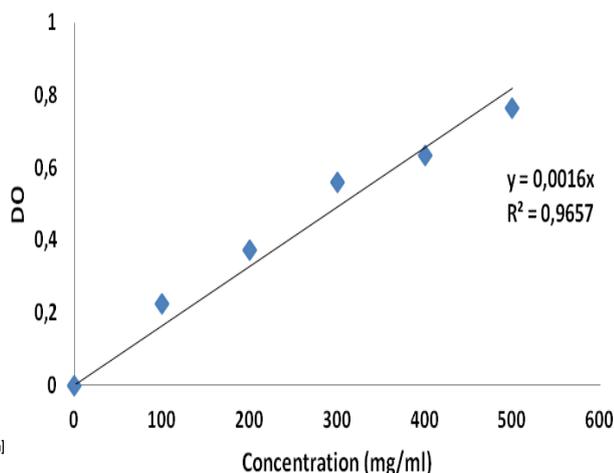


Figure 23. Courbe d'étalonnage de l'acide Gallique

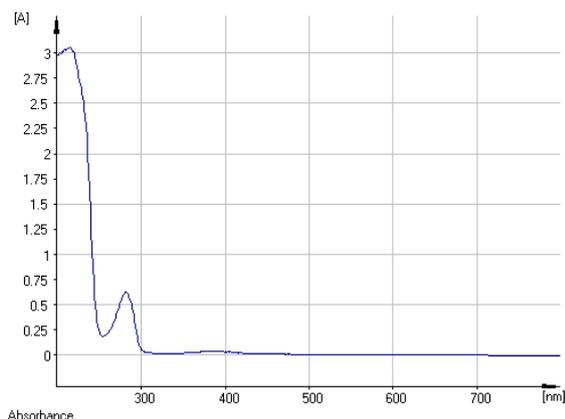


Figure 24. Spectre de la Catéchine

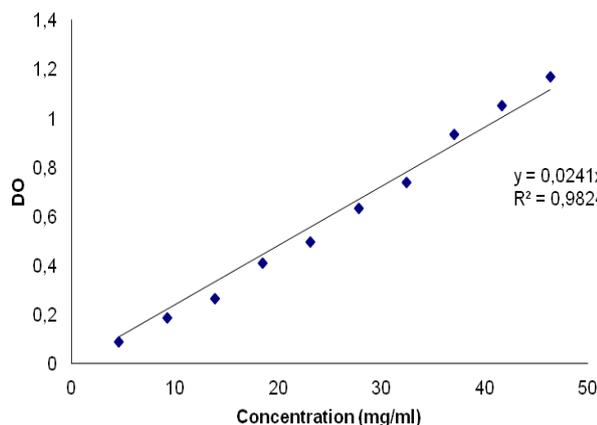


Figure 25. Courbe d'étalonnage de la Catéchine

- En utilisant l'acide gallique comme contrôle positif, la courbe d'étalonnage linéaire de l'acide gallique a été réalisée avec des concentrations oscillant entre 100 et 500 mg/mL, avec un R^2 égal à 0,9657.
- En utilisant la catéchine comme contrôle positif, la courbe d'étalonnage linéaire de la catéchine a été réalisée avec des concentrations allant de 5 à 50 mg/mL, avec un R^2 égal à 0,9824.

Biosorbant Cyprès

Radiation à 20 %

Cyprès + Cyclohexane

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,137	0,923	0,689	0,231	0,191
Q (mg EC/g)	48,103	13,91	10,37	3,482	2,879
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,33	15,07	15,05	15,07	15,07

La figure suivante (Figure 26) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

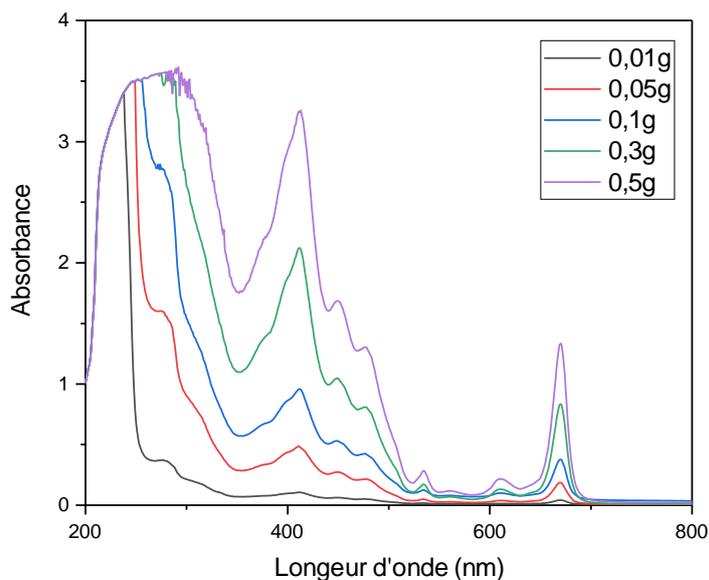


Figure 26. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}C$)

Cyprès + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau IX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	2,624	0,951	0,506	0,2933	0,160
Q (mg EC/g)	39,524	14,327	7,622	4,418	2,41
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,07	15,06

La figure suivante (**Figure 27**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

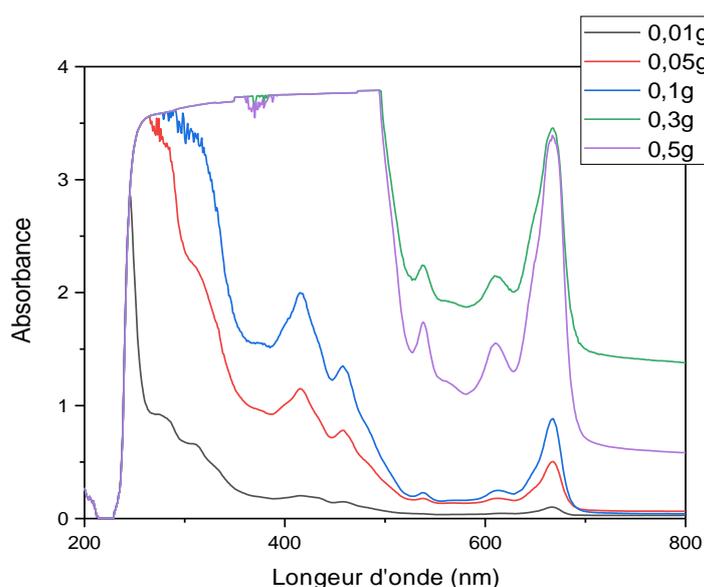


Figure 27. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}C$)

Radiation à 40 %

Cyprès + Cyclohexane

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau X. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,318	1,266	0,777	0,286	0,176
Q (mg EC/g)	49,977	19,08	11,7	4,32	2,651
Q (mg EC/g)/ Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,05	15,1	15,06

La figure suivante (**Figure 28**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

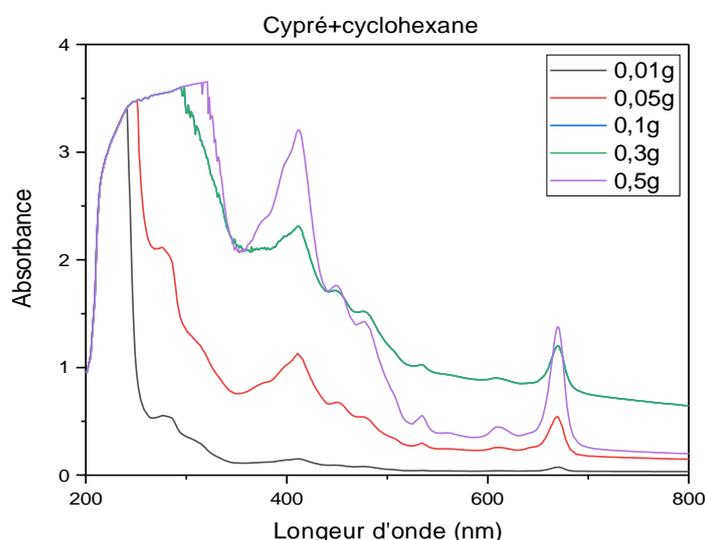


Figure 28. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}C$)

Cyprès + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,562	0,994	0,862	0,339	0,213
Q (mg EC/g)	53,652	14,175	12,997	5,114	3,219
Q (mg EC/g)/ Q(mg EAG/g)	15,06	15,06	15,07	15,08	15,1

La figure suivante (**Figure 29**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

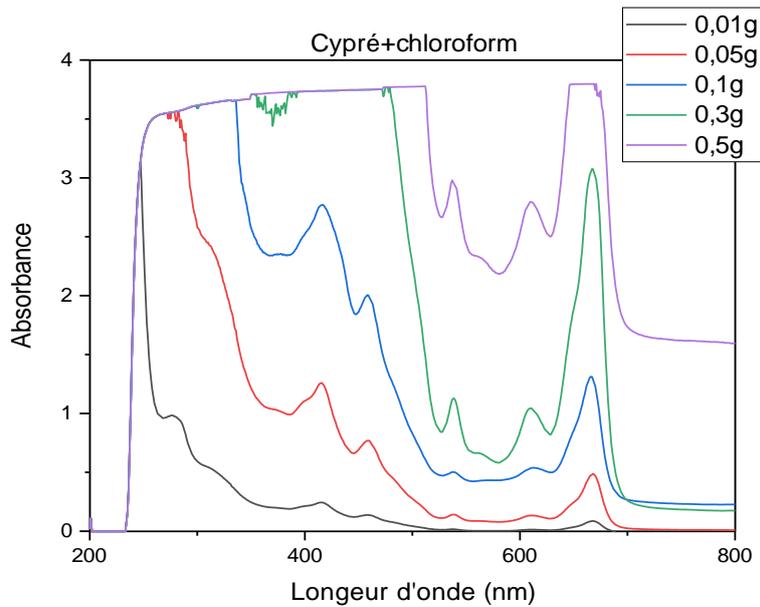


Figure 29. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}C$)

Radiation à 60 %

Cyprès + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,562	0,994	0,862	0,339	0,213
Q (mg EC/g)	53,652	14,175	12,997	5,114	3,219
Q (mg EC/g)/ Q(mg EAG/g)	15,06	15,06	15,07	15,08	15,1

La figure suivante (Figure 30) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

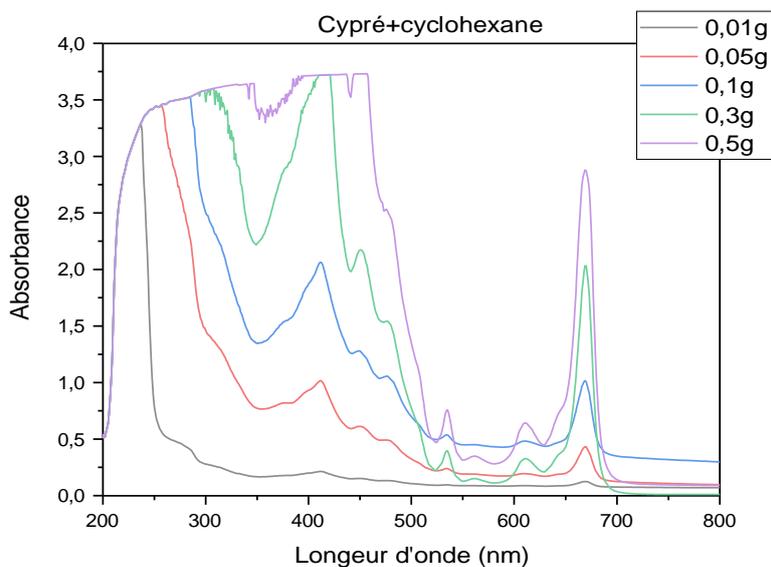


Figure 30. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Cyprès + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,547	0,918	0,709	0,325	0,185
Q (mg EC/g)	53,426	13,833	10,684	4,901	2,8
Q (mg EC/g) / Q(mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,08	15,13

La figure suivante (**Figure 31**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

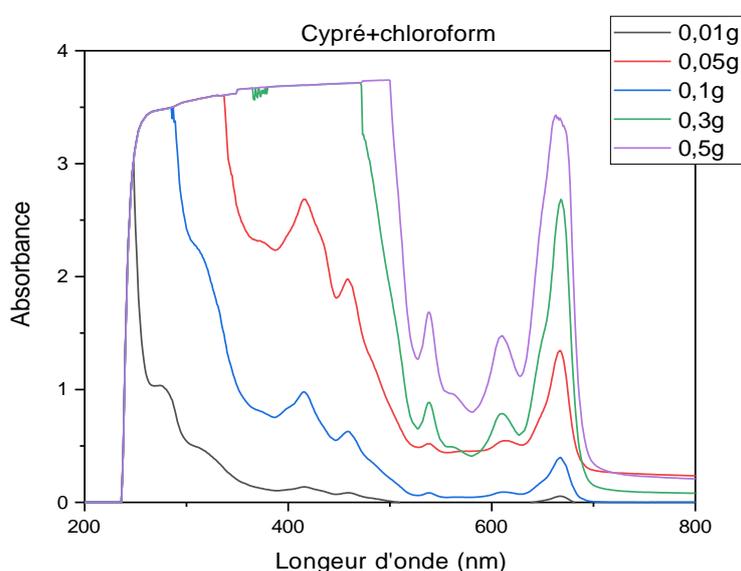


Figure 31. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Radiation à 80 %

Cyprès + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XIV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	2,797	0,708	0,531	0,232	0,196
Q (mg EC/g)	42,129	10,676	8,012	3,501	2,964
Q (mg EC/g) / Q(mg EAG/g)	15,06	15,07	15,08	15,09	15,12

La figure suivante (**Figure 32**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

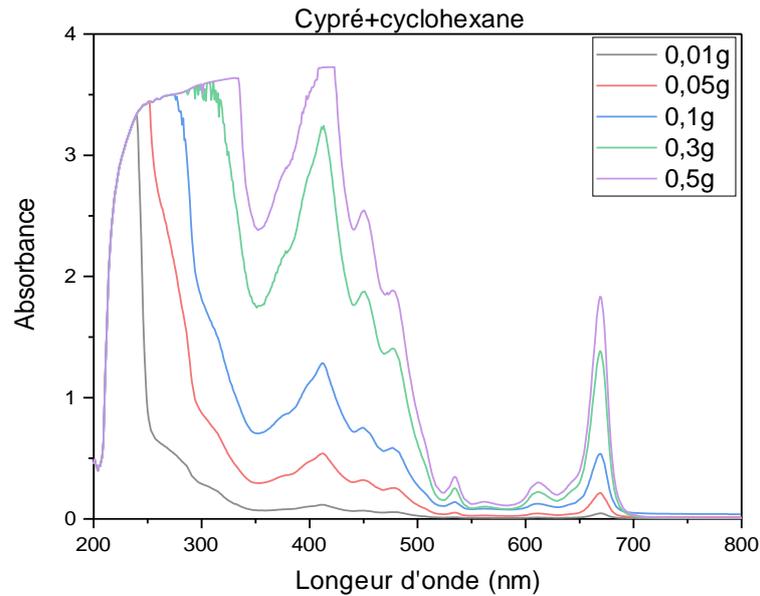


Figure 32. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)

Cyprès + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,445	0,978	0,680	0,294	0,207
Q (mg EC/g)	51,890	14,737	10,247	4,442	3,13
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,1	15,12

La figure suivante (**Figure 33**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

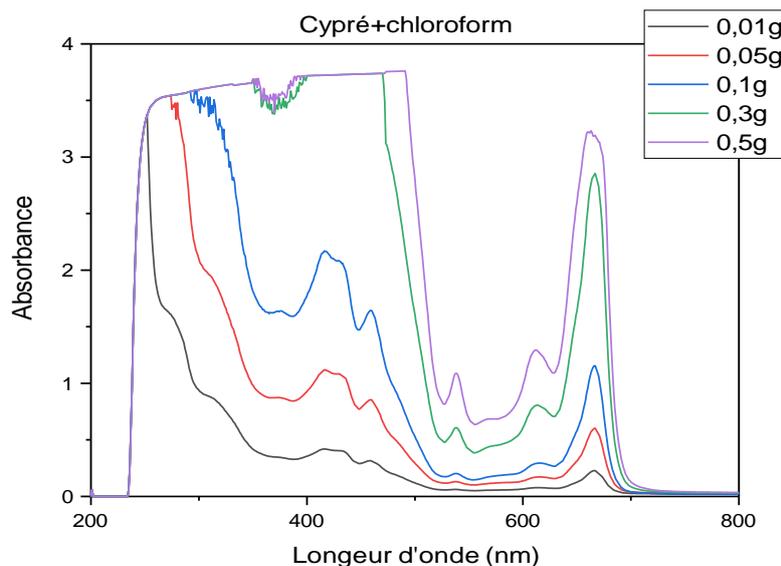


Figure 33. Spectres Cyprès + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)

Radiation à 100 %

Cyprès + Cyclohexane

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XVI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	2,816	0,931	0,798	0,27	0,18
Q (mg EC/g)	42,416	14,026	12,025	4,072	2,712
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,08	15,06

La figure suivante (**Figure 34**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

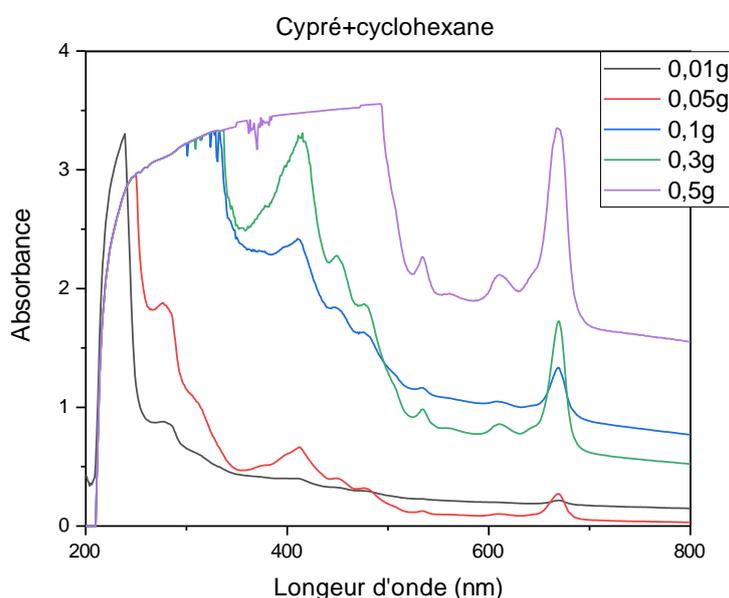


Figure 34. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}C$)

Cyprès + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XVII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	2,553	0,897	0,787	0,206	0,159
Q (mg EC/g)	38,454	13,52	11,85	3,104	2,397
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,05	15,06	15,07

La figure suivante (**Figure 35**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses du Cyprès utilisées.

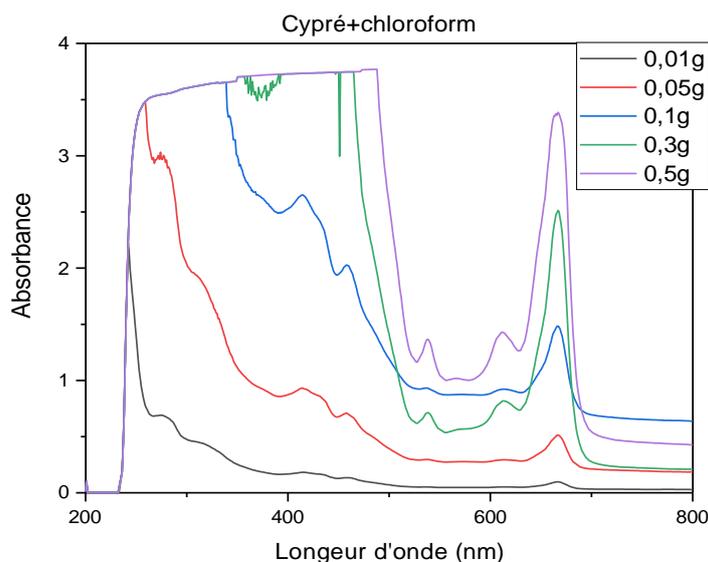


Figure 35. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}C$)

Récapitulatif

Les résultats des extractions montrent que pour une même masse de cyprès, la quantité extraite des flavonoïdes est d'environ 15 fois la quantité extraite des polyphénols. Donc le rapport $Q \text{ (mg EC/g)}/Q \text{ (mg EAG/g)}$ reste inchangé.

Les résultats de l'extraction cyclohexanique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XVIII. $Q \text{ (mg EC/g)}/Q \text{ (mg EAG/g)}$ avec cyclohexane fonction de la masse du Cyprès

Cyprès + Cyclohexane						Radiations (%)
Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
Q (mg EAG/g)	3,137	0,923	0,689	0,231	0,191	20
Q (mg EC/g)	48,103	13,91	10,37	3,482	2,879	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,33	15,07	15,05	15,07	15,07	
Q (mg EAG/g)	3,318	1,266	0,777	0,286	0,176	40
Q (mg EC/g)	49,977	19,08	11,7	4,32	2,651	
Q (mg EC/g)/ Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,05	15,1	15,06	
Q (mg EAG/g)	3,562	0,994	0,862	0,339	0,213	60
Q (mg EC/g)	53,652	14,175	12,997	5,114	3,219	
Q (mg EC/g)/ Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,07	15,08	15,1	
Q (mg EAG/g)	2,797	0,708	0,531	0,232	0,196	80
Q (mg EC/g)	42,129	10,676	8,012	3,501	2,964	
Q (mg EC/g)/ Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,08	15,09	15,12	
Q (mg EAG/g)	2,816	0,931	0,798	0,27	0,18	100
Q (mg EC/g)	42,416	14,026	12,025	4,072	2,712	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,08	15,06	

Les figures suivantes (**Figure 36, 37**) représentent les spectres des extraits cyclohexaniques pour différentes masses et radiations.

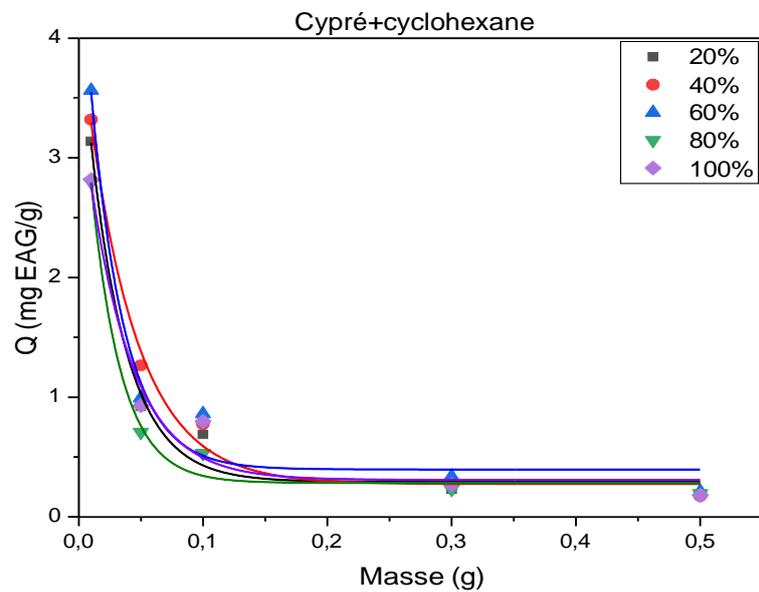


Figure 36. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

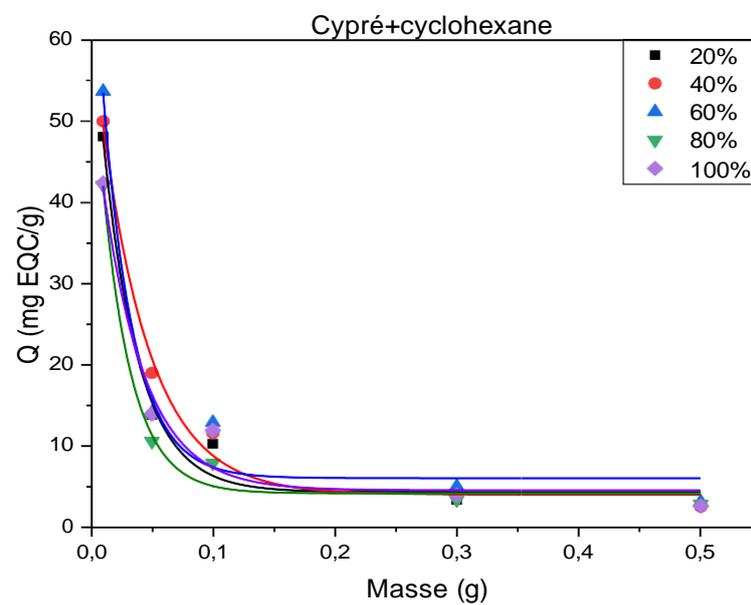


Figure 37. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du Cyprès

Les résultats de l'extraction chloroformique sont résumés dans le tableau ci-dessous :

Tableau XIX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) avec chloroforme fonction de la masse du Cyprès

Cyprès + Chloroforme						Radiations (%)
Masse du Cyprès (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
Q (mg EAG/g)	2,624	0,951	0,506	0,2933	0,160	20
Q (mg EC/g)	39,524	14,327	7,622	4,418	2,41	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,07	15,06	
Q (mg EAG/g)	3,562	0,994	0,862	0,339	0,213	40
Q (mg EC/g)	53,652	14,175	12,997	5,114	3,219	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,07	15,08	15,1	
Q (mg EAG/g)	3,318	1,266	0,777	0,286	0,176	60
Q (mg EC/g)	49,977	19,08	11,7	4,32	2,651	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,05	15,1	15,06	
Q (mg EAG/g)	3,445	0,978	0,680	0,294	0,207	80
Q (mg EC/g)	51,890	14,737	10,247	4,442	3,13	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,1	15,12	
Q (mg EAG/g)	2,553	0,897	0,787	0,206	0,159	100
Q (mg EC/g)	38,454	13,52	11,85	3,104	2,397	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,05	15,06	15,07	

Les figures suivantes représentent les spectres des extraits chloroformiques pour différentes masses et radiations.

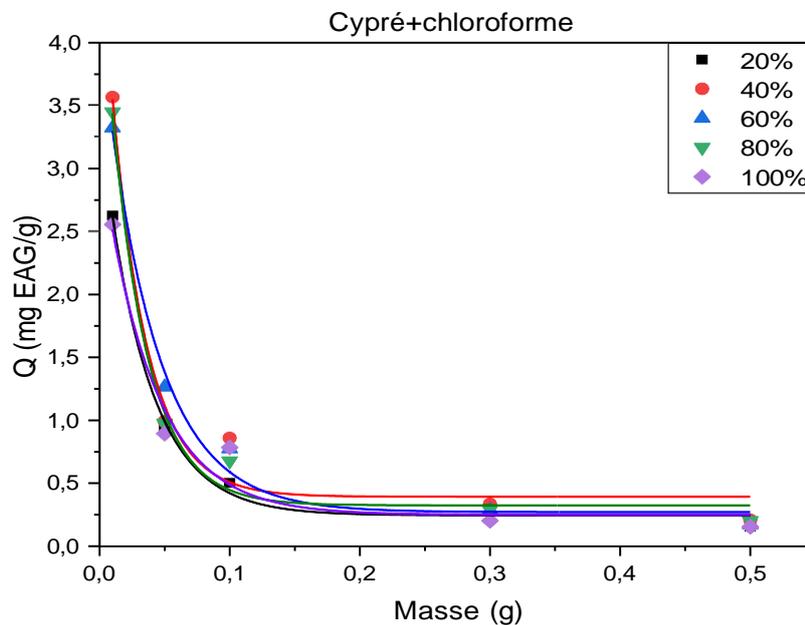


Figure 38. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du Cyprès

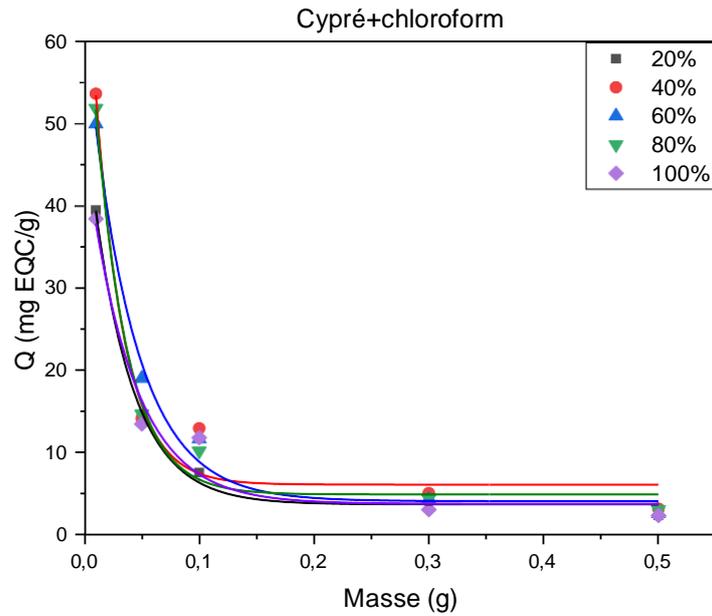


Figure 39. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du Cyprès

Biosorbant Fibre (Son de blé)

Radiation à 20 %

Fibre + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	4,039	0,222	0,178	0,083	0,067
Q (mg EC/g)	60,837	3,346	2,693	1,259	1,008
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,12	15,11	15,04

La figure suivante (**Figure 40**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

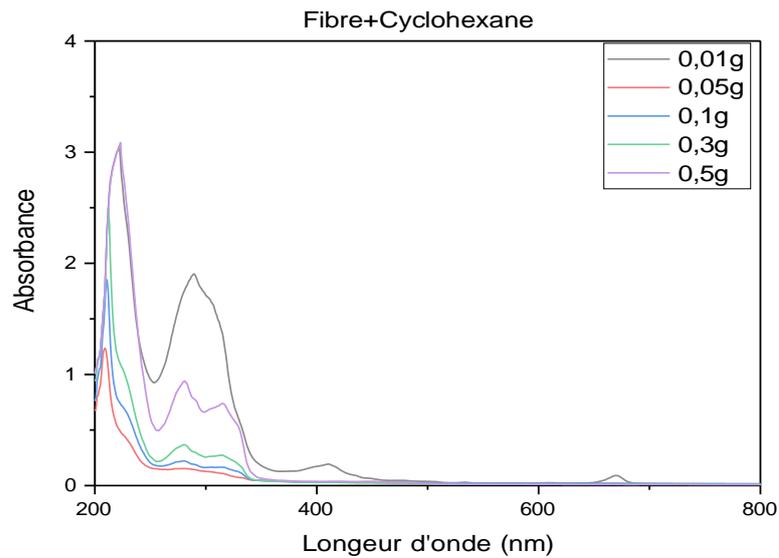


Figure 40. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}\text{C}$)

Fibre + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	1,913	0,250	0,152	0,164	0,132
Q (mg EC/g)	28,814	3,771	2,292	2,480	1,992
Q (mg EC/g)/Q(mg EAG/g)	15,06	15,08	15,07	15,12	15,09

La figure suivante (**Figure 41**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

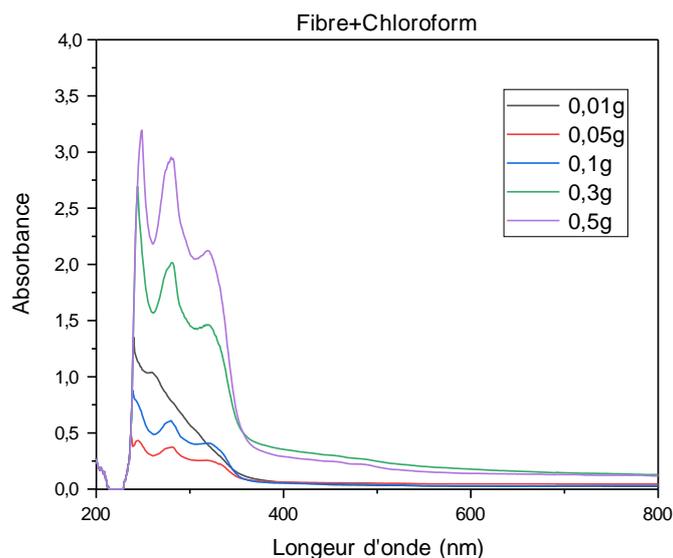


Figure 41. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}\text{C}$)

Radiation à 40 %

Fibre + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	5,230	0,429	0,396	0,143	0,108
Q (mg EC/g)	78,776	6,467	5,970	2,160	1,637
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,09

La figure suivante (**Figure 42**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

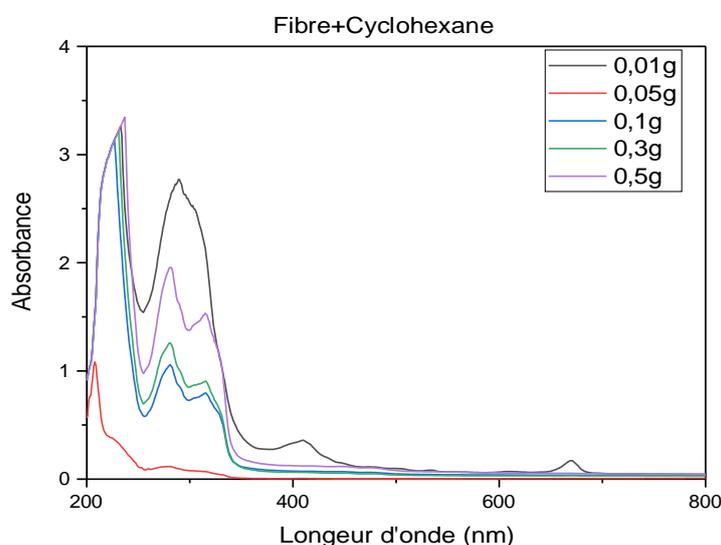


Figure 42. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}C$)

Fibre + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,616	0,375	0,311	0,102	0,118
Q (mg EC/g)	9,278	5,664	4,698	1,544	1,788
Q (mg EC/g)/Q(mg EAG/g)	15,06	15,05	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 43**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

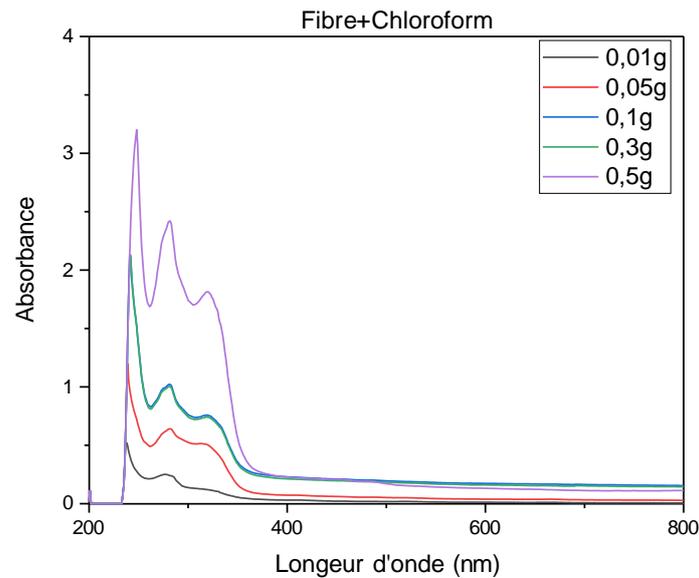


Figure 43. Spectres Cyprès + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}C$)

Radiation à 60 %

Fibre + Cyclohexane

Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXIV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	1,954	0,477	0,239	0,118	0,111
Q (mg EC/g)	29,432	7,193	3,601	1,780	1,680
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (Figure 44) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

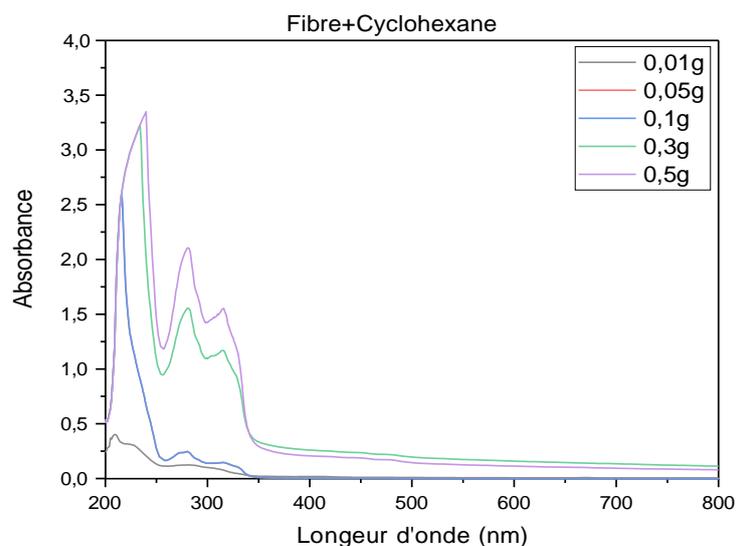


Figure 44. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Fibre + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,364	0,296	0,265	0,132	0,109
Q (mg EC/g)	5,482	4,467	4,002	2,0013	1,645
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 45**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

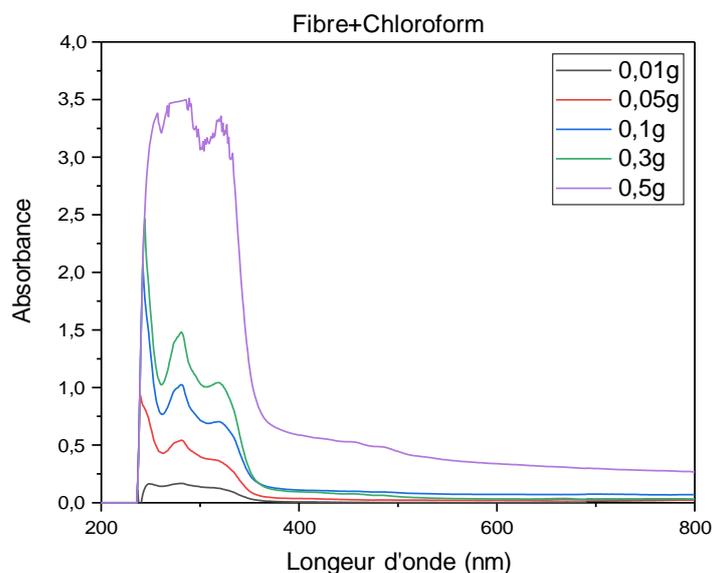


Figure 45. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Radiation à 80 %

Fibre + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXVI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	1,548	0,180	0,199	0,140	0,085
Q (mg EC/g)	23,316	2,723	3,000	2,112	1,282
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 46**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

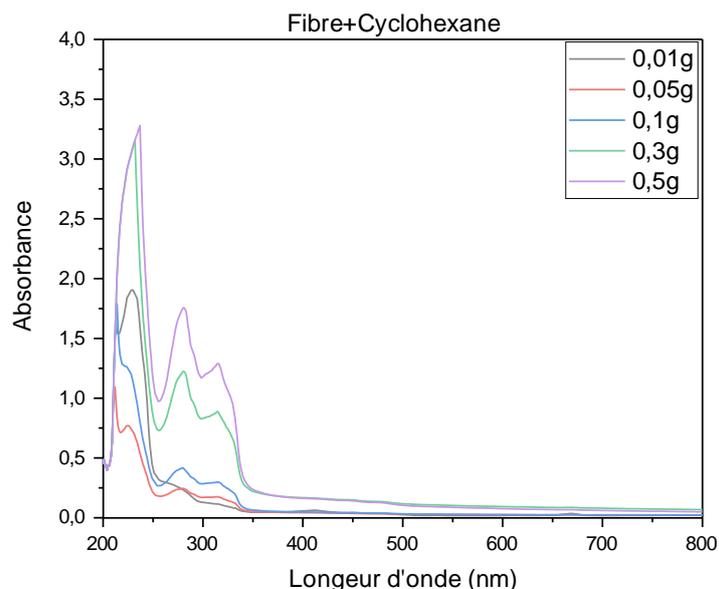


Figure 46. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)

Fibre + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXVII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,387	0,251	0,215	0,176	0,039
Q (mg EC/g)	51,016	3,795	3,241	2,655	0,598
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 47**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

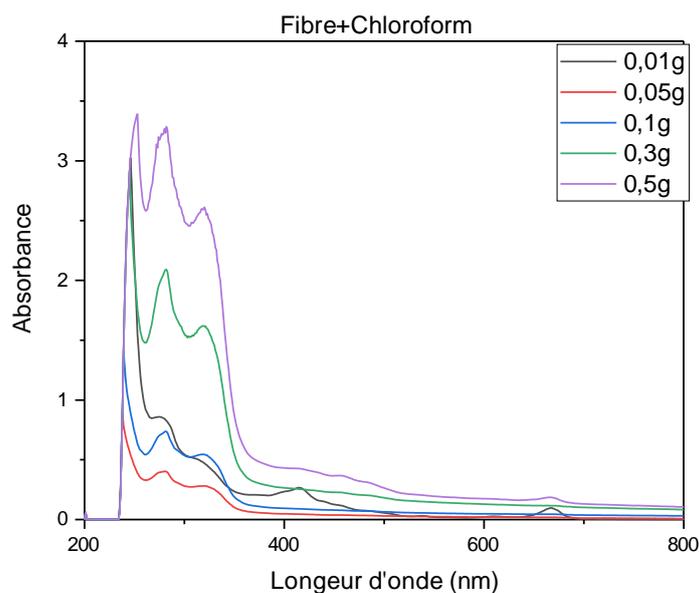


Figure 47. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)

Radiation à 100 %

Fibre + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXVIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,854	0,206	0,182	0,122	0,096
Q (mg EC/g)	12,863	3,105	2,744	1,851	1,460
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,062

La figure suivante (**Figure 48**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

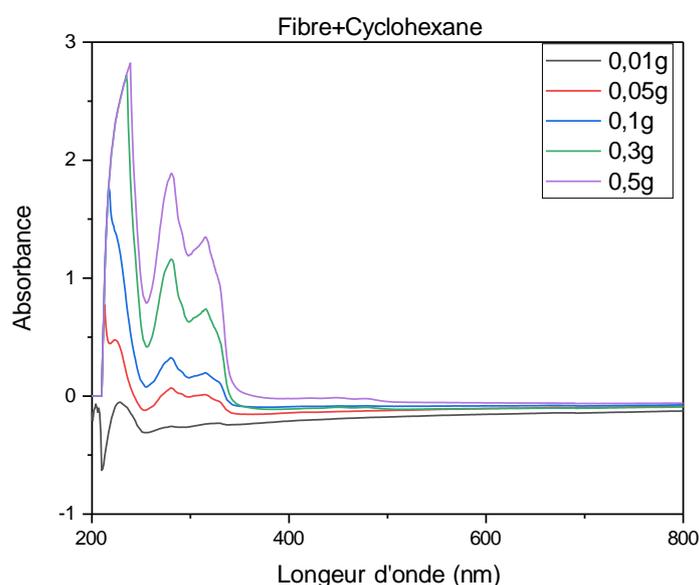


Figure 48. Spectres fibre + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}C$)

Fibre + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXIX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	1,232	0,411	0,1752	0,237	0,138
Q (mg EC/g)	18,557	6,193	2,646	3,577	2,084
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,10	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 49**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

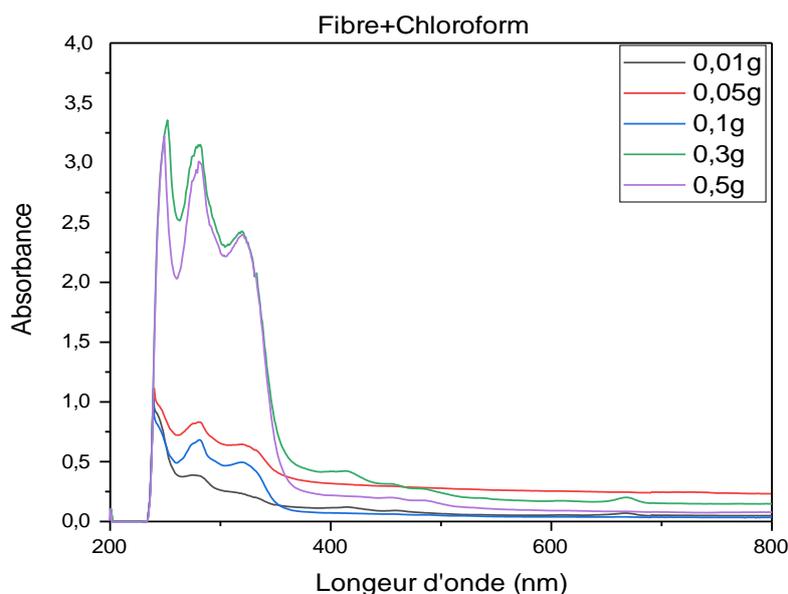


Figure 49. Spectres fibre + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Récapitulatif

Les résultats obtenus indiquent que pour une même masse de fibre, la quantité extraite des flavonoïdes est d'environ 15 fois la quantité extraite des polyphénols. Donc, le rapport Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) reste inchangé.

Les résultats de l'extraction cyclohexanique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Fibre + Cyclohexane						Radiations (%)
Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
Q (mg EAG/g)	4,039	0,222	0,178	0,083	0,067	20
Q (mg EC/g)	60,837	3,346	2,693	1,259	1,008	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,07	15,12	15,11	15,04	
Q (mg EAG/g)	5,230	0,429	0,396	0,143	0,108	40
Q (mg EC/g)	78,776	6,467	5,970	2,160	1,637	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,09	
Q (mg EAG/g)	1,954	0,477	0,239	0,118	0,111	60
Q (mg EC/g)	29,432	7,193	3,601	1,780	1,680	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	1,548	0,180	0,199	0,140	0,085	80
Q (mg EC/g)	23,316	2,723	3,000	2,112	1,282	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	0,854	0,206	0,182	0,122	0,096	100
Q (mg EC/g)	12,863	3,105	2,744	1,851	1,460	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,062	

Les figures suivantes représentent les spectres des extraits cyclohexaniques pour différentes masses et radiations.

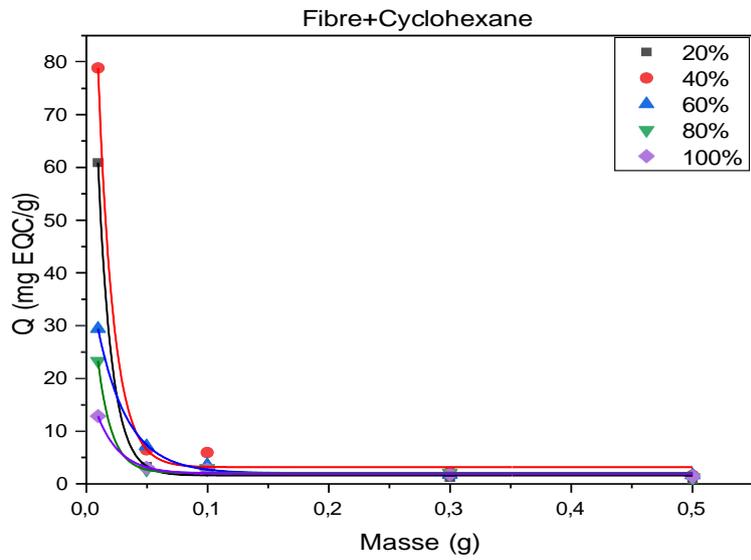


Figure 50. Q (mg EAG/g) en fonction de masse de la fibre

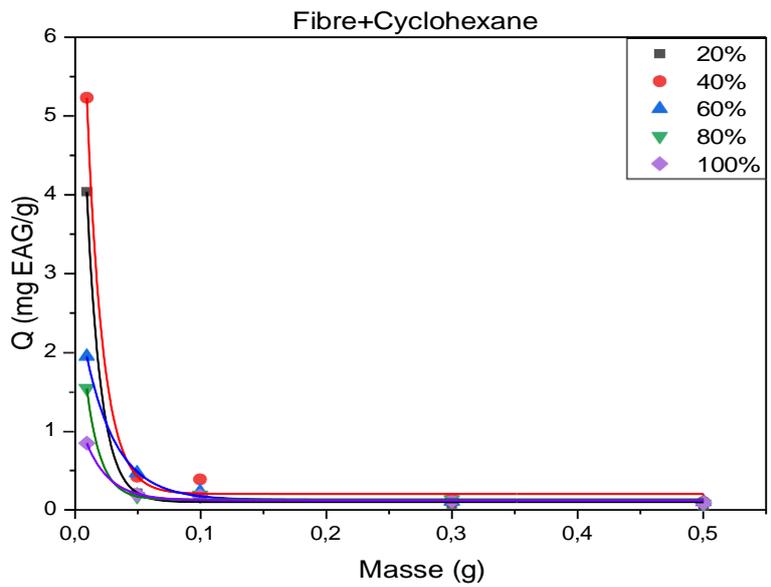


Figure 51. Q (mg EC/g) en fonction de la masse de la fibre

Les résultats de l'extraction chloroformique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

Fibre + Chloroforme						Radiations (%)
Masse de la fibre (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
Q (mg EAG/g)	1,913	0,250	0,152	0,164	0,132	20
Q (mg EC/g)	28,814	3,771	2,292	2,480	1,992	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,08	15,07	15,12	15,09	
Q (mg EAG/g)	0,616	0,375	0,311	0,102	0,118	40
Q (mg EC/g)	9,278	5,664	4,698	1,544	1,788	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,05	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	0,364	0,296	0,265	0,132	0,109	60
Q (mg EC/g)	5,482	4,467	4,002	2,001	1,645	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,062	
Q (mg EAG/g)	3,387	0,251	0,215	0,176	0,039	80
Q (mg EC/g)	51,016	3,795	3,241	2,655	0,598	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	1,232	0,411	0,1752	0,237	0,138	100
Q (mg EC/g)	18,557	6,193	2,646	3,577	2,084	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,10	15,06	15,06	

Les figures suivantes représentent les spectres des extraits chloroformiques pour différentes masses et radiations.

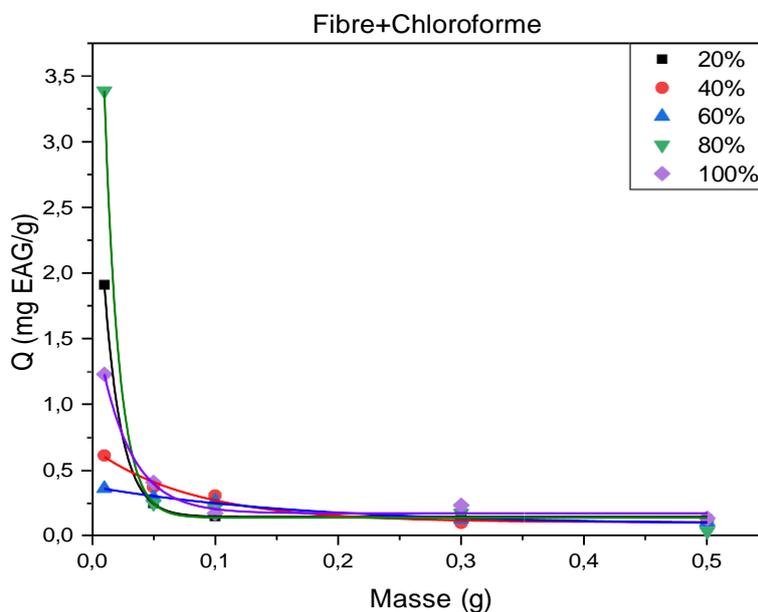


Figure 52. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse de la fibre

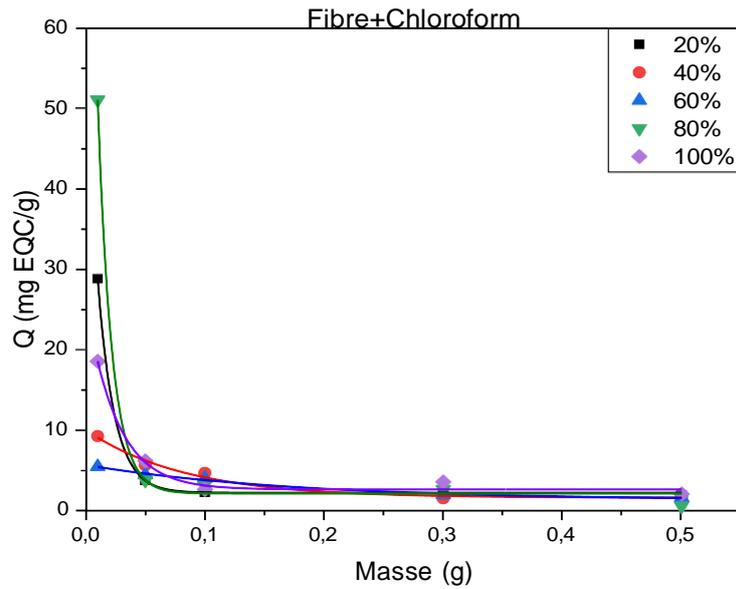


Figure 53. Q (mg EC/g) en fonction de la masse de la fibre

Biosorbant Filao

Radiation à 20 %

Filao + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,88	0,176	0,108	0,11	0,060
Q (mg EC/g)	13,255	2,651	1,626	1,664	0,917
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,07	15,06	15,06	15,06	15,06

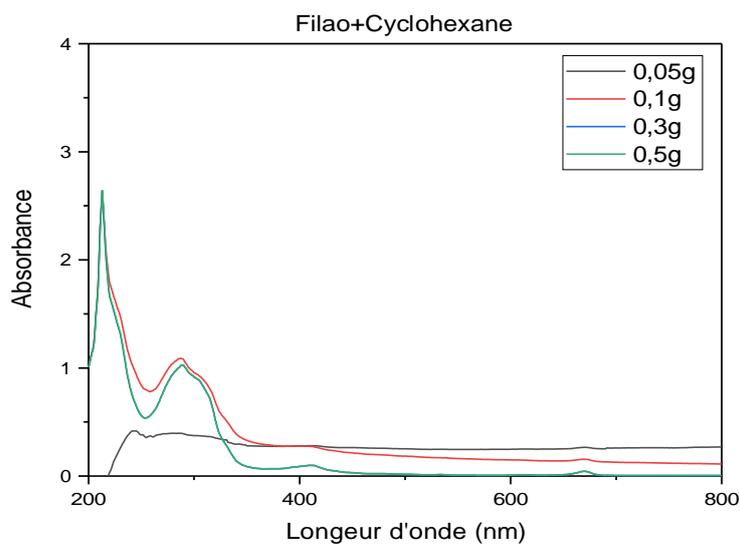


Figure 54. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}C$)

Filao + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	1,339	0,344	0,302	0,188	0,130
Q (mg EC/g)	20,168	5,193	4,559	2,836	1,970
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 55**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

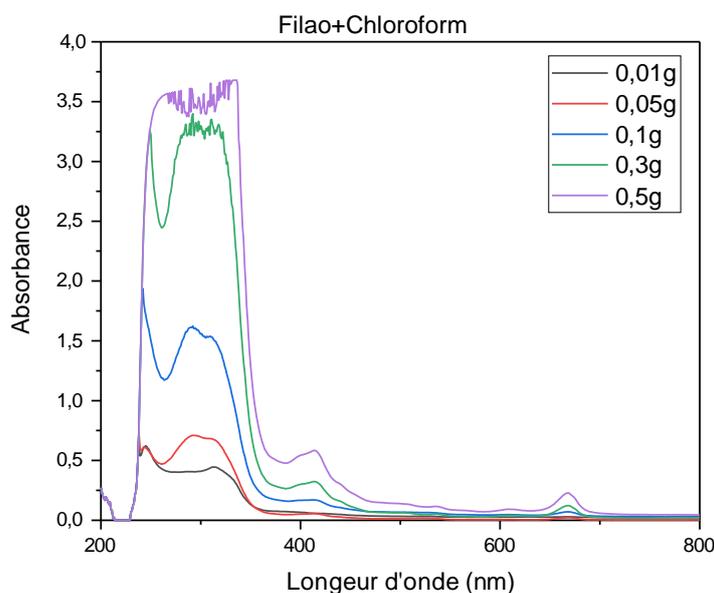


Figure 55. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=2^{\circ}C$)

Radiation à 40 %

Filao + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXIV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	8,156	0,588	0,179	0,088	0,110
Q (mg EC/g)	122,849	8,868	2,679	1,337	1,665
Q (mg EC/g)/Q(mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 56**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

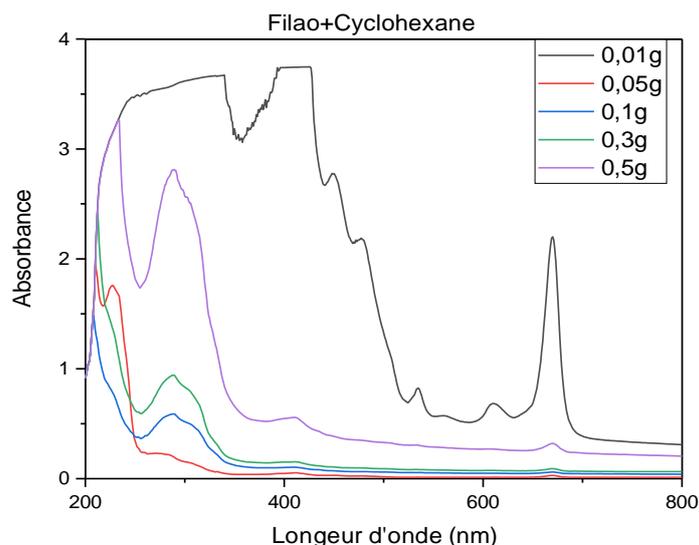


Figure 56. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}\text{C}$)

Filao + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXV. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	3,874	0,433	0,496	0,220	0,159
Q (mg EC/g)	58,352	6,531	7,471	3,317	2,400
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,0625	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 57**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

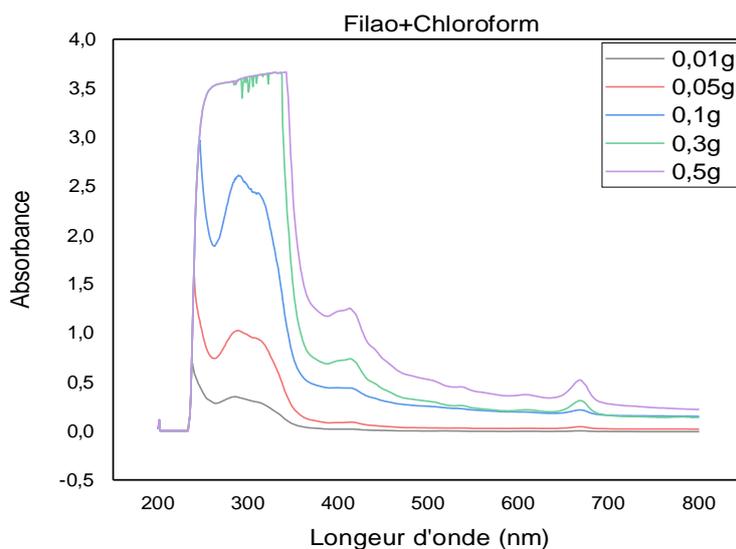


Figure 57. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=12^{\circ}\text{C}$)

Radiation à 60 %

Filao + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXVI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	2,002	0,219	0,265	0,162	0,115
Q (mg EC/g)	30,155	3,298	4,000	2,444	1,746
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 58**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

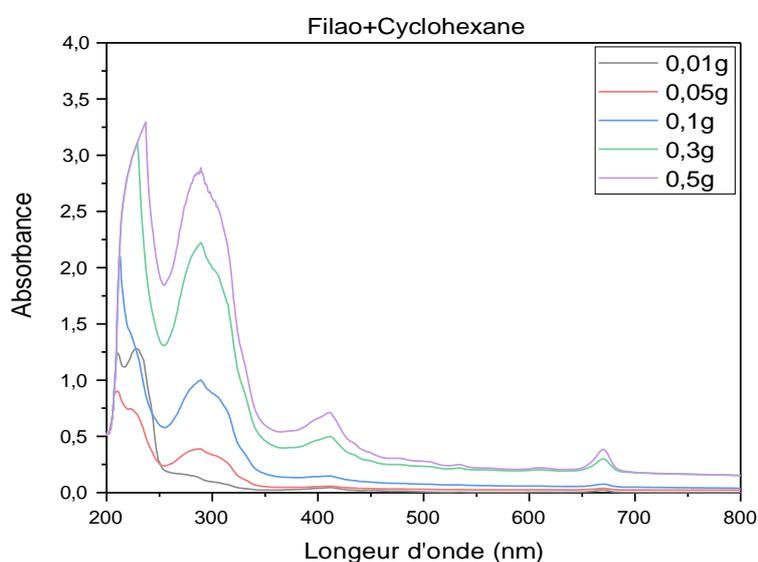


Figure 58. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Filao + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXVII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	4,682	0,4704	0,4525	0,1216	0,09568
Q (mg EC/g)	70,522	7,0854	6,8157	1,8316	1,44118
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 59**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

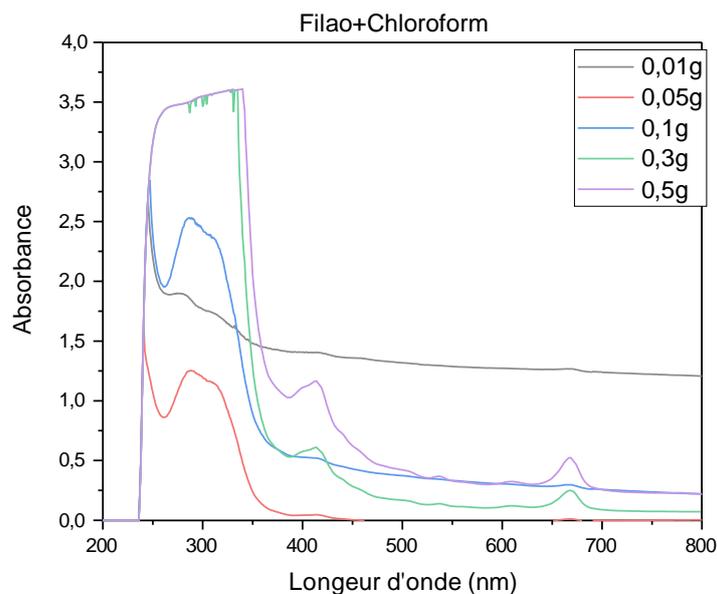


Figure 59. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=20^{\circ}C$)

Radiation à 80 %

Filao + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXVIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,688	0,178	0,180	0,148	0,112
Q (mg EC/g)	10,363	2,687	2,718	2,232	1,697
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 60**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

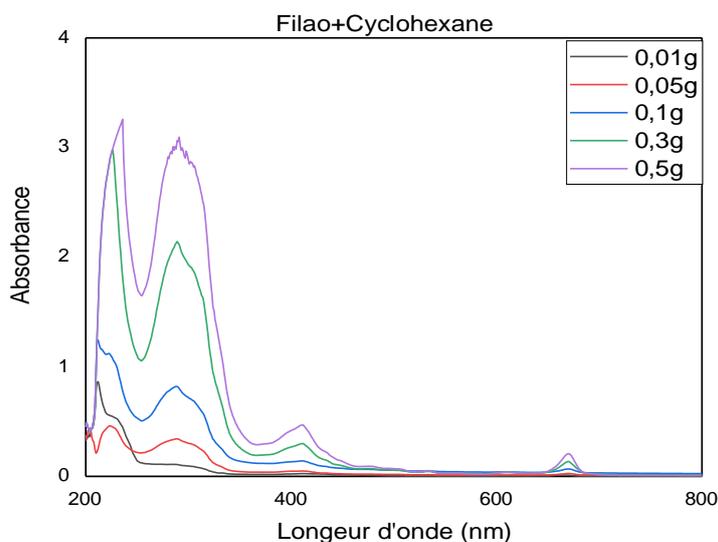


Figure 60. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)

Filao + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XXXIX. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	1,242	0,406	0,327	0,193	0,075
Q (mg EC/g)	18,707	6,121	4,928	2,913	1,139
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 61**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

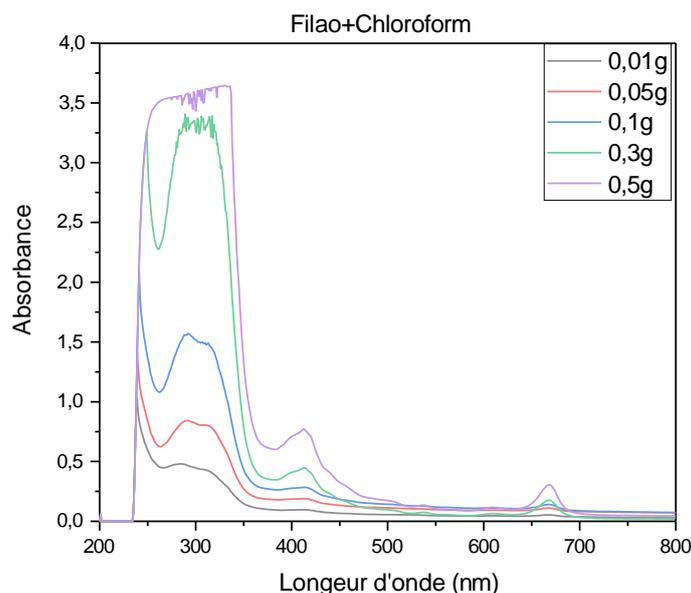


Figure 61. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=24^{\circ}C$)

Radiation à 100 %

Filao + Cyclohexane

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XL. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,152	0,070	0,156	0,140	0,094
Q (mg EC/g)	2,289	1,060	2,357	2,120	1,419
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,05	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 62**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

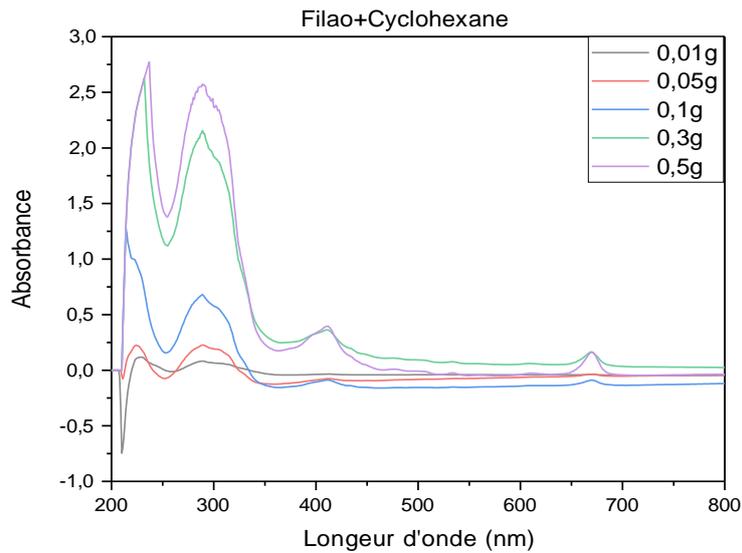


Figure 62. Spectres filao + cyclohexane, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}C$)

Filao + Chloroforme

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XLI. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Masse du filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5
Q (mg EAG/g)	0,856	0,489	0,358	0,149	0,079
Q (mg EC/g)	12,893	7,36	5,395	2,245	1,195
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06

La figure suivante (**Figure 63**) représente les spectres d'absorption des extraits obtenus pour les différentes masses utilisées.

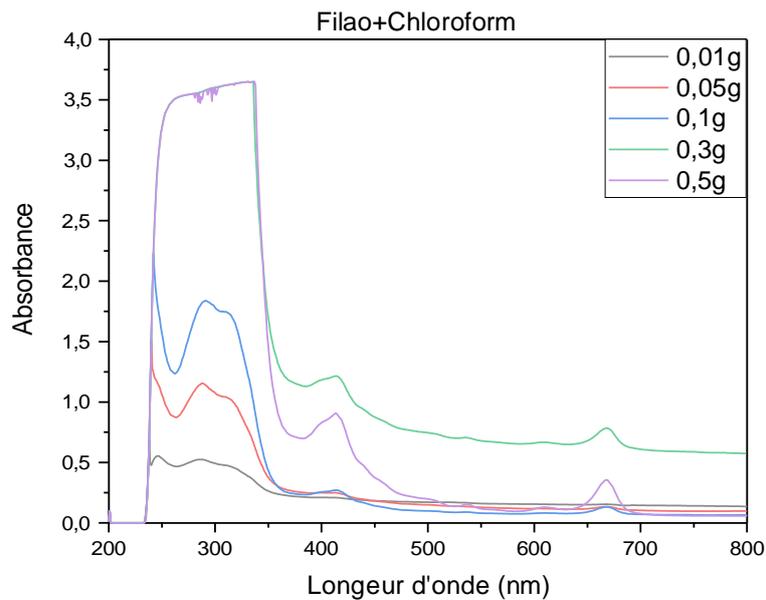


Figure 63. Spectres filao + chloroforme, avec augmentation de la température ($\Delta T=26^{\circ}C$)

Récapitulatif

Les résultats obtenus montrent que pour une même masse de filao, la quantité extraite des flavonoïdes est d'environ 15 fois la quantité extraite des polyphénols. Donc, le rapport Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) reste inchangé.

Les résultats de l'extraction cyclohexanique sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau XLII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Filao + Cyclohexane						Radiations (%)
Masse du filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
Q (mg EAG/g)	0,88	0,176	0,108	0,11	0,060	20
Q (mg EC/g)	13,255	2,651	1,626	1,664	0,917	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,07	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	8,156	0,588	0,179	0,088	0,110	40
Q (mg EC/g)	122,849	8,868	2,679	1,337	1,665	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	2,002	0,219	0,265	0,162	0,115	60
Q (mg EC/g)	30,155	3,298	4,000	2,444	1,746	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	0,688	0,178	0,180	0,148	0,112	80
Q (mg EC/g)	10,363	2,687	2,718	2,232	1,697	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	0,152	0,070	0,156	0,140	0,094	100
Q (mg EC/g)	2,289	1,060	2,357	2,120	1,419	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,05	15,06	15,06	15,06	15,06	

Les figures suivantes représentent les spectres des extraits cyclohexaniques pour différentes masses et radiations.

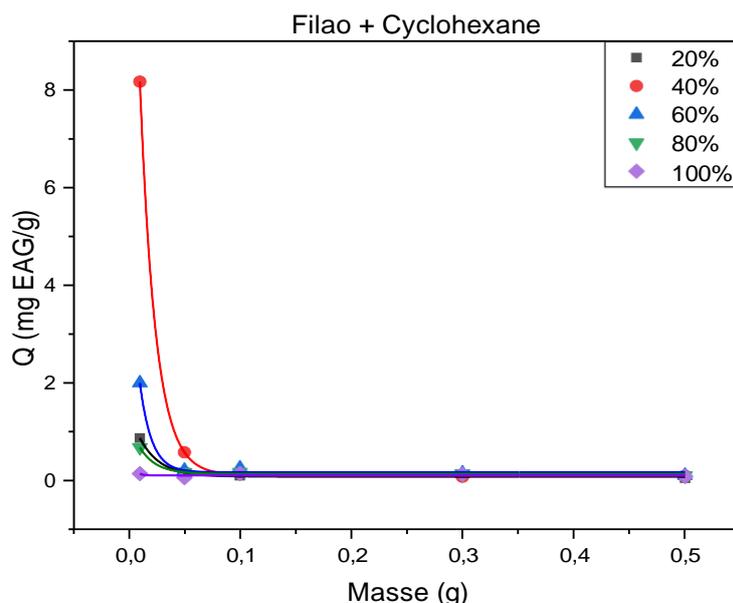


Figure 64. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

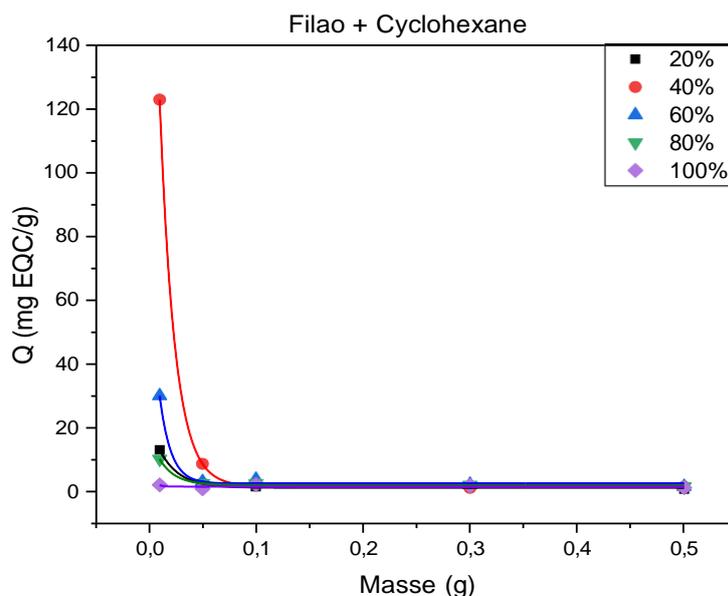


Figure 65. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du filao

Les résultats de l'extraction chloroformique sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau XLIII. Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

Filao + Chloroforme						Radiations (%)
Masse du Filao (g)	0,01	0,05	0,1	0,3	0,5	
Q (mg EAG/g)	1,339	0,344	0,302	0,188	0,130	20
Q (mg EC/g)	20,168	5,193	4,559	2,836	1,970	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	3,874	0,433	0,496	0,220	0,159	40
Q (mg EC/g)	58,352	6,531	7,471	3,317	2,400	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,062	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	4,682	0,470	0,452	0,121	0,095	60
Q (mg EC/g)	70,522	7,085	6,815	1,831	1,441	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	1,242	0,406	0,327	0,193	0,075	80
Q (mg EC/g)	18,707	6,121	4,928	2,913	1,139	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	
Q (mg EAG/g)	0,856	0,489	0,358	0,149	0,079	100
Q (mg EC/g)	12,893	7,36	5,395	2,245	1,195	
Q (mg EC/g)/Q (mg EAG/g)	15,06	15,06	15,06	15,06	15,06	

Les figures suivantes représentent les spectres des extraits chloroformiques pour différentes masses et radiations.

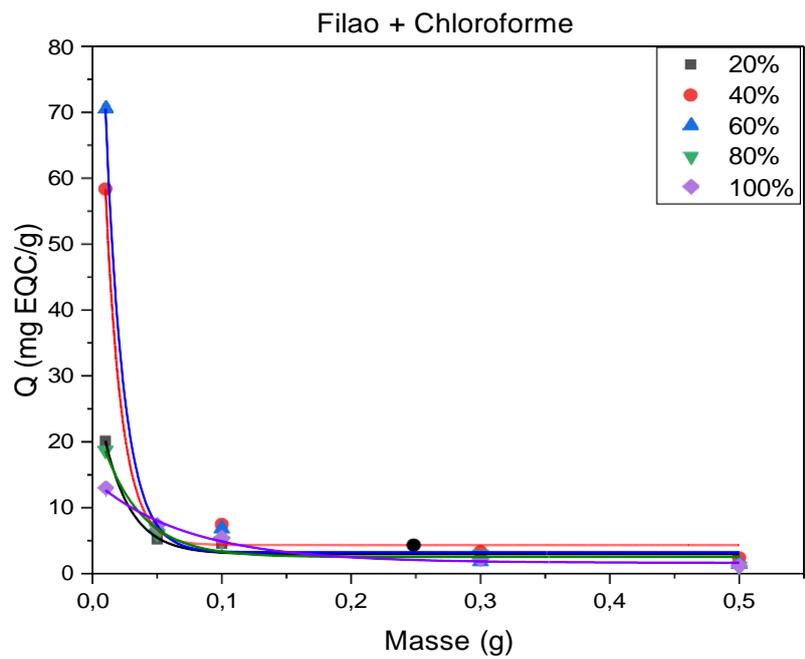


Figure 66. Q (mg EAG/g) en fonction de la masse du filao

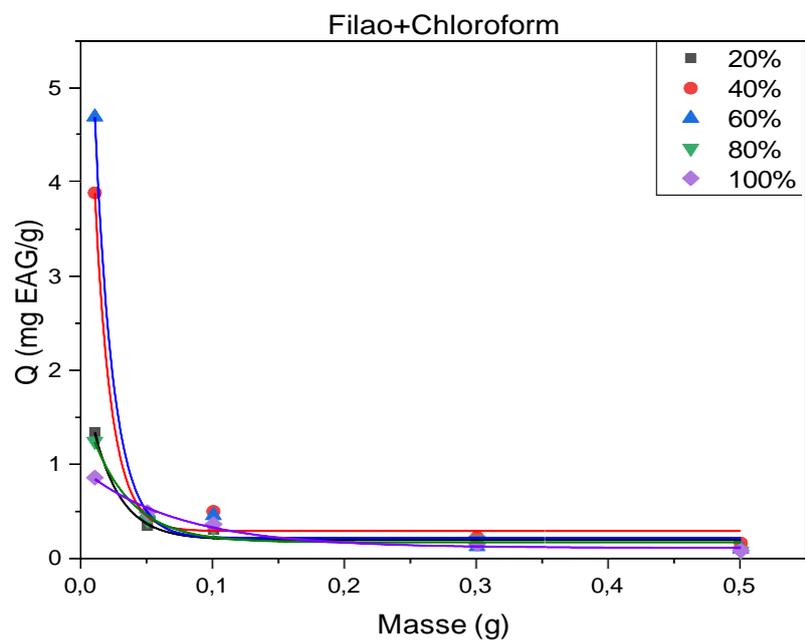


Figure 67. Q (mg EC/g) en fonction de la masse du filao

IV. Variation de la température aux cours des différentes extractions

Les températures notées en amont puis en aval des extractions, à différentes radiations ultrasoniques, ont permis de tracer la courbe ci-dessous (**Figure 68**).

Au cours des différentes extractions, la température maximale atteinte dans le bain à ultrason était de 78 °C pour une radiation de 100 %.

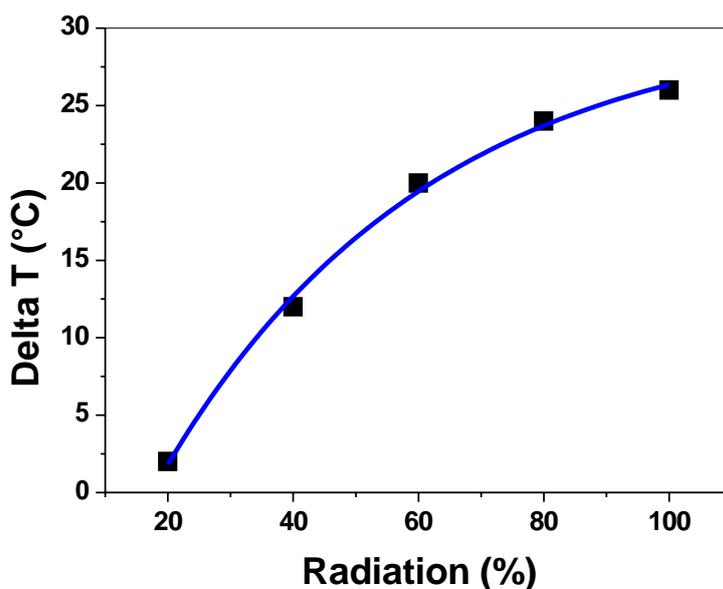


Figure 68. Variation de la température en fonction du pourcentage de la radiation

V. Comparaisons entre les différentes matrices végétales

La comparaison des quantités maximales en polyphénols et en flavonoïdes dans les trois matrices végétales a permis de conclure que le Filao est le plus riche en ces composés suivi par le son du blé, tandis que le cyprès s’est montré plus pauvre (**Tableau XLIV**).

Tableau XLV. Comparaison entre les trois matrices végétales

Matrice	Filao	Son du blé	Cyprès
Polyphénols (mg EAG/g)	8,156	5,230	3,562
Flavonoïdes (mg EC/g)	122,849	78,776	53,652

VI. Commentaires des résultats obtenus

L'effet de masse

Pour les trois matrices végétales (Filao, Cyprès et son du blé), les résultats montrent que les rendements les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes sont obtenus avec la masse la plus faible (0,01 g) et ce quelle que soit la radiation utilisée. D'autre part, pour une même radiation, ces rendements diminuent généralement avec l'augmentation de la masse utilisée ; le volume étant fixé tout au long de cette étude à 5 mL (voir tableaux et figures récapitulatifs).

L'effet du solvant

Les solvants utilisés, chloroforme (polaire) et cyclohexane (apolaire), ont montré une différence remarquable dans les rendements d'extraction des polyphénols et des flavonoïdes pour les trois matrices végétales.

Dans le cas du Cyprès, le rendement maximal en polyphénols (3,562) et en flavonoïdes (53,652) est obtenu à 60 % de radiation avec du cyclohexane et à seulement 40 % avec du chloroforme. Par contre, pour les autres matrices le cyclohexane s'est avéré plus efficace pour l'extraction donnant respectivement des quantités maximales en polyphénols et en flavonoïdes de :

- 5,230 et 78,776 à 40 % contre 3,387 et 51,016 à 80 % avec du chloroforme dans le cas du son du blé,

- 8,156 et 122,849 à 40 % contre 4,682 et 70,522 à 60 % avec du chloroforme dans le cas du Filao.

Ces différences mettent en lumière l'importance de l'effet lié à la polarité du solvant d'extraction (Voir les valeurs surlignées en jaune dans les tableaux récapitulatifs).

L'effet de la radiation

Pour une masse utilisée, le rendement de l'extraction en fonction de l'augmentation du pourcentage de la radiation ne suit pas une fonction croissante (voir tableaux récapitulatifs). Cette constatation concerne les polyphénols et les flavonoïdes des trois matrices végétales étudiées.

La température

Concernant la température de l'extraction, les résultats indiquent que le ΔT augmente parallèlement à l'élévation de la radiation ultrasonique utilisée. La courbe obtenue montre que l'équilibre tend vers les 100 % de radiation (**Figure 68**).

VII. Discussion des résultats obtenus

De nombreuses études publiées ont analysé l'influence des principales variables expérimentales sur l'efficacité et le rendement de l'EAU des composés phénoliques.

Effet du solvant

Les polyphénols sont distribués dans la cellule en fonction de leur solubilité liée à leur polarité. Les composés hydrophiles se trouvent principalement dans les vacuoles cellulaires, tandis que d'autres, comme la majorité des lignines, des flavonoïdes et des polyphénols insolubles dans l'eau, se déposent dans la paroi cellulaire par des liaisons hydrophobes avec les protéines et les polysaccharides **(86)**. Le solvant d'extraction doit donc être choisi en fonction de la solubilité des composés à extraire **(3,86,87)**.

Dans notre étude, le cyclohexane et le chloroforme ont donné tous les deux des résultats intéressants. Dans le cas du Cyprès, le chloroforme était préférable ; par contre, pour le Filao et le son du blé, le cyclohexane était plus efficace. Cette différence remarquable peut être liée au profil compositionnel en polyphénols qui diffère d'une matrice à une autre, étant connu que l'affinité entre le solvant et la matrice joue un rôle très important au cours de l'extraction ultrasonique.

Les solvants comme le méthanol ou l'éthanol ont une polarité nettement inférieure à celle de l'eau, ce qui favorise la solubilité et la diffusion des composés phénoliques en réduisant la constante diélectrique du solvant. Cependant, des études antérieures s'accordent à dire que l'utilisation de solvants organiques très purs peut provoquer la déshydratation et l'effondrement des cellules végétales, ainsi que la dénaturation des protéines de la paroi cellulaire **(3)** empêchant la dissolution des polyphénols, et influençant ensuite l'extraction **(86)**. Pour cette raison, les mélanges hydro-alcooliques, en particulier l'éthanol, sont les systèmes de solvants les plus appropriés **(88)**. Sahin et Samli **(89)** ont rapporté que le meilleur rendement d'extraction des composés phénoliques a été obtenu en utilisant un mélange éthanol-eau à 50%-50%. Ces auteurs mettent en avant un effet synergique entre les solvants, puisque l'eau agit comme un agent gonflant de la matrice végétale, augmentant la surface de contact, tandis que l'éthanol induit la rupture de la liaison entre les solutés et la matrice **(3)** et augmente les taux de transfert de masse **(86)**. Néanmoins, Tomsik **(87)** et Muñoz-Márquez **(88)** ont indiqué qu'à 70% de concentration d'éthanol dans les solvants, les rendements d'extraction étaient meilleurs, en raison de la polarité des composés présents dans les échantillons. La solubilité des composés phénoliques dans différents solvants ne peut pas être basée

uniquement sur leurs polarités car la solubilité est liée à différents paramètres tels que la stéréochimie des composés (les fragments polaires et non polaires de la molécule) et les forces intermoléculaires entre eux et le solvant (90). De même, l'interaction du solvant avec le système d'extraction doit être prise en compte. Les caractéristiques physiques du solvant affectent grandement la cavitation, car les cavités se forment plus facilement lorsqu'un solvant à haute pression, à faible viscosité et à faible tension superficielle est utilisé (3,91).

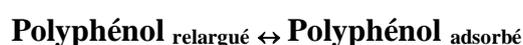
Effet du temps d'extraction

Le temps d'extraction optimal de 30 minutes, rapporté dans notre étude, est en accord avec les données de la littérature.

Pendant le processus d'EAU, les solutés sont en contact avec le solvant, donc l'efficacité de l'extraction est grandement influencée par le temps d'interaction entre les deux phases (92). Sahin et Samli (89) ont rapporté que la teneur en polyphénols extraits par ultrasons augmente continuellement avec le temps, suivant un mécanisme formé par deux étapes principales. La première est appelée l'étape de " lavage ", qui couvre les 10-20 premières min d'extraction. Dans cette étape, la dissolution des composants solubles sur les surfaces de la matrice est effectuée et c'est à ce stade que jusqu'à 90% de la récupération du contenu phénolique total peut être atteinte, indiquant ainsi un taux d'extraction considérablement rapide (93). Dans la deuxième étape, connue sous le nom d'"extraction lente", le transfert de masse du soluté de la matrice vers le solvant est effectué par diffusion ; le temps de ce processus peut durer de 60 à 100 min (3,89).

Effet des ultrasons

L'amplitude joue un rôle important dans l'intensification de l'extraction. En augmentant l'amplitude, le nombre de cycles de compression et de raréfaction des ondes ultrasonores augmente et, par conséquent, il y a une plus grande délivrance des composés (3,94). Carrera et al. (95), ont signalé des différences statistiques significatives en comparant les rendements d'extraction des anthocyanes et des tanins en utilisant des amplitudes d'ondes de 20 % et 50 %, ce qui suggère qu'une plus grande amplitude ultrasonique améliore le processus d'extraction (3). Les résultats de notre étude divergent de ces données. Ceci peut être attribué aux particularités de certaines matrices végétales, dans lesquelles, l'effet de relargage et de rétention suit un processus d'équation d'équilibre :



Effet de la température

En général, une augmentation de la température est corrélée à une amélioration des rendements d'extraction des polyphénols en raison de : l'induction de ruptures de liaisons matricielles, l'augmentation de la solubilité des composés, la vitesse de diffusion du solvant, le transfert de masse et la réduction de la viscosité et de la tension du solvant (3,93,96). Cependant, à des valeurs dépassant 75 °C, la température peut favoriser des taux de dégradation plus élevés des composés obtenus (95) et abaisser la constante de vitesse d'extraction, suite à la réduction de l'intensité de la cavitation en raison de la baisse de la tension de surface et de l'augmentation de la pression de vapeur des bulles de cavitation (3,97).

Dans notre étude, la température n'a pas pu être stabilisée à des valeurs fixes. Cependant, leurs variations (ΔT) au cours des différentes extractions ont été notées. Ces dernières augmentent avec l'élévation de la radiation utilisée. Ceci peut être expliqué par le fait que les ultrasons incitent à la formation de minuscules bulles soumises à des compressions et expansions adiabatiques rapides, qui provoquent une augmentation locale des températures et des pressions en leur sein (86). Il est clair que l'importance des radiations ultrasoniques appliquées sera proportionnelle au réchauffement engendré. Une telle augmentation de température est bénéfique car le processus d'extraction est endothermique.

Effet du rapport soluté/solvant

Les résultats de notre étude ont montré des rendements plus importants avec les masses les plus faibles des matrices végétales étudiées. Ces constatations concordent avec celles rapportées dans la littérature.

Le rapport soluté/solvant est l'un des facteurs les plus critiques lors du transfert de masse, car un plus grand volume de solvant permet d'accélérer le processus de diffusion (88). Une augmentation de la concentration des composés phénoliques est observée lorsque le rapport soluté/solvant augmente (3). Sousa et al. (98) ont indiqué qu'un rapport de 1:40 g/mL soluté/solvant est idéal pour fournir la quantité de solvant nécessaire pour entrer dans les cellules et améliorer ainsi la perméation des composés phénoliques. Toutefois, il convient de noter que l'EAU peut générer des composés plus solubles. Par conséquent, l'utilisation de grandes quantités de solvant pourrait conduire à la saturation du liquide dans le système d'extraction. En outre, de grandes quantités de solvants signifient une augmentation du coût des opérations ultérieures, telles que la concentration et la filtration des extraits obtenus, ainsi qu'une augmentation de la consommation d'énergie et de la quantité de déchets générés (3).

Autres effets en perspectives**– Effet de la taille des particules**

La réduction de la taille des particules de la matière première a un effet important sur le rendement d'extraction des composés phénoliques. Vilku et al. (90) ont indiqué que l'efficacité de l'extraction est améliorée lors de l'utilisation du substrat à l'état sec. Cette amélioration est due à la capacité du substrat à gonfler et à s'hydrater, provoquant ainsi une augmentation des pores de la paroi cellulaire (3). De plus, il a été démontré qu'une plus grande surface de contact entre le solvant et les particules favorise l'extraction des composés phénoliques (3,86).

– Effet de la fréquence de l'appareil à ultrasons

Dans la pratique, il n'est pas conseillé d'utiliser un traitement ultrasonique prolongé en mode continu, car il peut provoquer la dégradation et/ou l'oxydation des composés phénoliques, en conséquence de la génération de radicaux hydroxyyles hautement réactifs, lors de l'utilisation de hautes fréquences (358 et 850 kHz) ou de hautes puissances (750 W). La plupart des études sont réalisées avec des équipements à basses fréquences (20-60 kHz), car elles n'affectent pas la stabilité des polyphénols après leur extraction (3).

Optimisation de l'extraction assistée par ultrasons

Nous pouvons déduire que toutes les variables mentionnées affectent l'efficacité et le rendement de l'EAU des polyphénols. Cependant, il est indispensable de noter que, dans le système, leurs effets interagissent ensemble, et le produit de l'interaction de ces variables se reflète dans le contenu de l'activité biologique des extraits obtenus.

L'analyse de l'effet simultané des variables peut être effectuée par la mise en œuvre de la méthodologie de surface de réponse (RSM), un outil mathématique et statistique qui a été largement utilisé pour optimiser les conditions expérimentales d'un processus. Parmi les différentes méthodes de RSM, le plan de Box Behnken est le plus fréquemment rapporté (100), suivi par le plan composite central (101) et le plan expérimental cubique à faces centrées (87). L'analyse de régression sur les résultats obtenus par la mise en œuvre de ces modèles génère des équations polynomiales (en utilisant les valeurs significatives des coefficients de régression estimés), à partir desquelles les conditions optimales du processus sont déterminées. Le principal avantage du RSM est le petit nombre d'essais expérimentaux nécessaires pour évaluer l'effet de multiples paramètres en conjonction avec leurs interactions ; c'est pour cette raison que dans le processus d'obtention de polyphénols au moyen de l'UAE, cet outil est très utilisé afin de maximiser le rendement d'extraction et l'activité biologique de l'extrait (3).

Conclusion et perspectives

La présente étude constitue, à notre connaissance, la première étude à l'Université de Tlemcen qui s'est intéressée à l'extraction des polyphénols végétaux par ultrasons. Pour ce faire, nous avons été amenés à réaliser plusieurs extractions sur trois matrices choisies (Filao, Cyprès et son du blé), tout en modifiant les variables expérimentales (solvant, radiation, durée et masse de la matrice végétale). Les rendements obtenus ont permis de juger l'efficacité de la technique et les conditions optimales de l'extraction.

L'étude de l'effet des différents solvants sur la teneur en substances extractives a mis au premier rang le chloroforme et cyclohexane qui se sont avérés très prometteurs à cet égard, fournissant les meilleurs résultats d'extraction. Les autres conditions optimales pour l'extraction des polyphénols et des flavonoïdes ont été atteintes pour les masses les plus faibles (rapport 0,01 g de matrice/5 mL de solvant), le temps d'extraction de 30 minutes et des radiations qui oscillent entre 40 et 60 %.

La quantification des composés phénoliques dans les trois types d'extraits, a également permis de conclure que l'extrait de Filao (*Casuarina equisetifolia*) obtenu dans les conditions expérimentales optimales de l'EAU contenait des niveaux plus élevés de polyphénols (8,156 mg EAG/g) et de flavonoïdes (122,849 mg EC/g) que les autres extraits. Ces résultats suggèrent que les extraits obtenus peuvent être exploités dans les industries alimentaires (conservateurs, ingrédients alimentaires fonctionnels) ainsi que le secteur pharmaceutique comme une source potentielle de composés phénoliques. De plus, ces matrices végétales peuvent constituer des cibles fertiles pour les recherches futures.

À la lumière des résultats de cette étude, la méthode EAU est présentée comme une méthode attrayante pour tirer profit des composés phénoliques. Cette technique peut manifester un intérêt pratique car elle peut être utilisée comme une méthode rapide qui précède l'évaluation quantitative de ces composés. Cependant, il est très important de mentionner qu'il est nécessaire de mener des études futuristes plus approfondies en variant d'autres paramètres importants et en les optimisant afin de maximiser le contenu phénolique et ainsi réduire la consommation d'énergie et de matière première végétale, ce qui est d'une importance cruciale pour la mise à l'échelle du processus d'extraction.

Références bibliographiques

- 1- Piyush K., Charanjit S. R., Navdeep J. (2020), *Optimization of ultrasound assisted extraction of polyphenols from Meghalayan cherry fruit (Prunus nepalensis) using response surface methodology (RSM) and artificial neural network (ANN) approach*, Journal of Food Measurement and Characterization.
- 2- Parisi O. I., Puoci F., Restuccia D., Iemma F., Picci N. (2014), *Polyphenols and Their Formulations : Different Strategies to Overcome the Drawbacks Associated with Their Poor Stability and Bioavailability*, Polyphenols Hum. Health Dis, 4, 29-45.
- 3- Teresa A. T., Hugo E. A., Angeles S. C., Neith P. (2017), *Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources*, Agronomy, 7, 47.
- 4- Li A. N., Li S., Zhang Y. J., Xu X. R., Chen Y. M., Li H. B. (2014), *Resources and biological activities of natural polyphenols*, Nutrients, 6, 6020-6047.
- 5- Chrysa G., Antonia E. L., Nikos P., Dimitris P. M. (2017), *Combination of Lactic Acid-Based Deep Eutectic Solvents (DES) with α -Cyclodextrin : Performance Screening Using Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Selected Native Greek Medicinal Plants*, Agronomy.
- 6- Rodrigues S., Pinto G. A., Fernandes F. A. (2008), *Ultrason. Sonochem*, **15**, 95-100.
- 7- Barinderjit S., Narpinder S., Sheetal T., Amritpal K. (2016), *Ultrasound assisted extraction of polyphenols and their distribution in whole mung bean, hull and cotyledon*, Association of Food Scientists & Technologists (India).
- 8- Ceferino C., María J. A. G., Monika V., Marta F. G., Gerardo F. B., Miguel P. (2021), *A Novel Ultrasound-Assisted Extraction Method for the Analysis of Anthocyanins in Potatoes (Solanum tuberosum L.)*, Antioxidants.
- 9- Bibha K., Brijesh K. T., Mohammad B. H., Dilip K. R., Nigel P. B. (2017), *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from potato peels : profiling and kinetic modelling*, International Journal of Food Science and Technology.
- 10- Jorge E., Wong P., Diana B., Muñoz M., Guillermo C. G., Martínez Á., Ruth E. B., Cristóbal N. A. (2015), *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from native plants in the Mexican desert*, Ultrasonics Sonochemistry, 22, 474-481.
- 11- Nadia B., Lila B., Khodir M., Artur M. S., Sofiane D., Sonia O. B., Susana M. C., (2019), *Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Polyphenols from Myrtus communis L. Pericarp*, Antioxidants, 8, 205.
- 12- Dahmoune F., Boulekbache L., Moussi K., Aoun O., Spigno G., Madani K. (2013), *Valorization of Citrus limon residues for the recovery of antioxidants : Evaluation and optimization of microwave and ultrasound application to solvent extraction*, Ind. Crops Prod, 50, 77-87.
- 13- Dordevic T., Antov M. (2017), *Ultrasound assisted extraction in aqueous two-phase system for the integrated extraction and separation of antioxidants from wheat chaff*. Sep. Purif. Technol, 182, 52-58.
- 14- De Castro M. D. L., García-Ayuso L. E. (1998), *Soxhlet extraction of solid materials : An outdated technique with a promising innovative future*, Anal. Chim. Acta, 369, 1-10.
- 15- Chemat F., Rombaut N., Sicaire A. G., Meullemiestre A., Fabiano-Tixier A. S., Abert-Vian M. (2017), *Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms*,

techniques, combinations, protocols and applications. A review, Ultrason. Sonochem, 34, 540-560.

16- Živkovic J., Šavikin K., Jankovic T., Cujic N., Menkovic N. (2018), *Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenolic compounds from pomegranate peel using response surface methodology*, Sep. Purif. Technol, 194, 40-47.

17- Jacotet-Navarro M., Rombaut N., Deslis S., Fabiano-Tixier A. S., Pierre F. X., Bily A., Chemat F. (2016), *Towards a “dry” bio-refinery without solvents or added water using microwaves and ultrasound for total valorization of fruit and vegetable by-products*, Green Chem, 18, 3106-3115.

18- Ivan M. S., Ivana M. S. G. (2020), *Optimization of ultrasound-assisted extraction of polyphenols from wheatgrass (Triticum aestivum L.)*, Association of Food Scientists & Technologists (India).

19- Chen F., Sun Y., Zhao G., Liao X., Hu X., Wu J., Wang Z. (2007), *Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography–mass spectrometry*, Ultrason. Sonochem, 14, 767-778.

20- Abubakar E. M. (2010), *Antibacterial potential of crude leaf extracts of Eucalyptus camaldulensis against some pathogenic Bacteria*. Afr. J. Plant Sci. 4, 202-209.

21- Hosseini H., Bolourian S., Yaghoubi Hamgini E., Ghanuni Mahababadi E. (2018), *Optimization of heat- and ultrasound-assisted extraction of polyphenols from dried rosemary leaves using response surface methodology*, J Food Process Preserv.

22- Zu G., Zhang R., Yang L., Ma C., Zu Y., Wang W., Zhao, C. (2012), *Ultrasound-assisted extraction of carnosic acid and rosmarinic acid using ionic liquid solution from Rosmarinus officinalis*. Int. J. Mol. Sci., 13, 11027-11043.

23- Chemat F., Khan M. K. (2011), *Ultrason. Sonochem*, 18 (4), 813-835.

24- Rong T. (2010), *Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenols*, Nutrients.

25- Harborne J. B., Williams C. A. (2000), *Advances in flavonoid research since 1992*, Phytochemistry, 55, 481-504.

26- Cheynier V. (2005), *Polyphenols in foods are more complex than often thought*, Am. J. Clin. Nutr, 81, 223S-229S.

27- Hennebelle T., Sahpaz S., Bailleul F. (2004), *Polyphénols végétaux, sources, utilisations et potentiel dans la lutte contre le stress oxydatif*, Phytothérapie Numéro 1: 3-6.

28- Chira K., Suh J. H., Saucier C., Teissèdre P. L. (2008), *Les polyphénols du raisin*, Phytothérapie, 6, 75-82.

29- Cheynier V., Fulcrand H., Sarni P., Moutounet M. (1997), *Application des techniques analytiques à l'étude des composés phénoliques et de leurs réactions au cours de leur vinification*, In vino Analytica Scientia. Analisis, 25, 14-44.

30- Jean-Jacques Macheix J. J., Fleuriet A., Jay-Allemand C. (2005), *Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique*, Lausanne, Presses Polytechniques et universitaires romandes.

31- Crozier A. (2003), *Classification and biosynthesis of secondary plant products: An overview*, British Nutrition Foundation, 27-48.

- 32-** Bohm H., Boeing H., Hempel J. (1998), *Flavonols, flavone and anthocyanins as natural antioxidants of food and their possible role in the prevention of chronic diseases*. *Z Ernährungswiss*, 37(2) : 147-63.
- 33-** Williamson G. (2017), *The role of polyphenols in modern nutrition*, *Nutrition Bulletin*, 42, 226–235.
- 34-** D'Archivio M., Filesi C., Roberta Di Benedetto R., Gargiulo R., Giovannini C., Masella R. (2007), *Polyphenols, dietary sources and bioavailability*, *Ann Ist Super Sanità | Vol. 43, 4*, 348-361.
- 35-** Day A. J., DuPont M.S., Ridley S., Rhodes M., Rhodes M. J., Morgan M. R., Williamson G. (1998), *Deglycosylation of flavonoid and isoflavonoid glycosides by human small intestine and liver beta-glucosidase activity*, *FEBS Lett*, 436, 71-5.
- 36-** Nemeth K., Plumb G. W., Berrin J. G., Juge N., Jacob R., Naim H. Y., Williamson G., Swallow D. M., Kroon P. A. (2003), *Deglycosylation by small intestinal epithelial cell beta-glucosidases is a critical step in the absorption and metabolism of dietary flavonoid glycosides in humans*, *Eur J Nutr*, 42, 29-42.
- 37-** Wu X., Cao G., Prior R. L. (2002), *Absorption and metabolism of anthocyanins in elderly women after consumption of elderberry or blueberry*, *J Nutr*, 132,1865-71.
- 38-** Piskula M. K., Terao J. (1998), *Accumulation of (-)-epicatechin metabolites in rat plasma after oral administration and distribution of conjugation enzymes in rat tissues*, *J Nutr*, 128, 1172-8.
- 39-** Tilgmann C., Ulmanen I. (1996), *Purification methods of mammalian catechol-O-methyltransferases*, *J Chromatogr B Biomed Appl*, 684, 147-61.
- 40-** Falany C. N. (1997), *Enzymology of human cytosolic sulfotransferases*, *Faseb J*, 11, 206-16.
- 41-** Dangles O., Dufour C., Manach C., Morand C., Remesy C. (2001), *Binding of flavonoids to plasma proteins*, *Methods Enzymol*, 335, 319-33.
- 42-** Dufour C., Dangles O. (2005), *Flavonoid-serum albumin complexation: determination of binding constants and binding sites by fluorescence spectroscopy*, *Biochim Biophys Acta*, 1721, 164-73.
- 43-** Plamada D., Vodnar D. C. (2022), *Polyphenols-Gut Microbiota Interrelationship: A Transition to a New Generation of Prebiotics*, *Nutrients*, 14, 137.
- 44-** Collin S., Crouzet J. (2011), *Polyphénols et procédés : Transformation des polyphénols au travers des procédés appliqués à l'agro-alimentaire*, Tec & Doc Lavoisier.
- 45-** Chérifa BOUBEKRI (2014), *Étude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de Solanum melongena par des techniques électrochimiques*, Thèse doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra.
- 46-** An-Na L Sha L Yu-Jie Z., Xiang-Rong X., Yu-Ming C., Hua-Bin L. (2014), *Resources and Biological Activities of Natural Polyphenols*, *Nutrients*, 6, 6020-6047.
- 47-** Vaher M., Ehala S., Kaljurand M. (2005), *On-column capillary electrophoretic monitoring of rapid reaction kinetics for determination of the antioxidative potential of various bioactive phenols*, *Electrophoresis*, 26, 990-1000.
- 48-** Perez-Fons L., Garzon M. T., Micol V. (2010), *Relationship between the antioxidant capacity and effect of rosemary (Rosmarinus officinalis L.) polyphenols on membrane phospholipid order*, *J. Agric. Food Chem*, 58, 161-171.

- 49-** Leopoldini M., Russo N., Toscano M. (2011), *The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants*, Food Chem, 125, 288-306.
- 50-** Leopoldini M., Marino T., Russo N., Toscano M. (2004), *Antioxidant properties of phenolic compounds: H-atom versus electron transfer mechanism*, J. Phys. Chem. A, 108, 4916-4922.
- 51-** Luther M., Parry J., Moore J., Meng J., Zhang Y., Cheng Z., Yu L. L. L. U. (2007), *Inhibitory effect of Chardonnay and black raspberry seed extracts on lipid oxidation in fish oil and their radical scavenging and antimicrobial properties*, Food Chem, 104, 1065-1073.
- 52-** Vita J. A. (2005), *Polyphenols and cardiovascular disease: Effects on endothelial and platelet function*, Am. J. Clin. Nutr., 81, 292S-297S.
- 53-** Santhakumar A. B., Kundur A. R., Fanning K., Netzel M., Stanley R., Singh I. (2015), *Consumption of anthocyanin-rich queen garnet plum juice reduces platelet activation related thrombogenesis in healthy volunteers*, J. Funct. Food., 12, 11-22.
- 54-** Hadi S. M., Bhat S. H., Azmi A. S., Hanif S., Shamim U., Ullah M. F. (2007), *Oxidative breakage of cellular DNA by plant polyphenols: A putative mechanism for anticancer properties*, Semin. Cancer Biol., 17, 370-376.
- 55-** Santangelo C., Vari R., Scazzocchio B., Di Benedetto R., Filesi C., Masella R. (2007), *Polyphenols, intracellular signalling and inflammation*, Ann. Ist. Super. Sanita, 43, 394-405.
- 56-** Luceri C., Caderni G., Sanna A., Dolara P. (2002), *Red wine and black tea polyphenols modulate the expression of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase and glutathione-related enzymes in azoxymethane-induced f344 rat colon tumors*, J. Nutr., 132, 1376-1379.
- 57-** Stangl V., Dreger H., Stangl K., Lorenz M. (2007), *Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system*, Cardiovasc. Res., 73, 348-358.
- 58-** Karin M., Yamamoto Y., Wang Q. M. (2004), *The IKK NF-kappa B system: A treasure trove for drug development*, Nat. Rev. Drug Discov., 3, 17-26.
- 59-** Soobrattee M. A., Neergheen V. S., Luximon-Ramma A., Aruoma O. I., Bahorun T. (2005), *Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions*, Mutat. Res. Fundam. Mol. Mech. Mutagen., 579, 200-213.
- 60-** Rodriguez V. M., Aredes F. P., Manca D. N. M., Strasser D. S. A. (2010), *Phenolic compound combinations on Escherichia coli viability in a meat system*, J. Agric. Food Chem., 58, 6048-6052.
- 61-** Woods R. K., Walters E. H., Raven J. M., Wolfe R., Ireland P. D., Thien F. C., Abramson M. J. (2003), *Food and nutrient intakes and asthma risk in young adults*, Am. J. Clin. Nutr., 78, 414-421.
- 62-** Pandey K. B., Rizvi S. I. (2009), *Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease*, Oxidative Med. Cell. Longev., 2, 270-278.
- 63-** Fan P., Lou H. (2004), *Effects of polyphenols from grape seeds on oxidative damage to cellular DNA*, Mol. Cell. Biochem., 267, 67-74.
- 64-** Stagos D., Spanou C., Margariti M., Stathopoulos C., Mamuris Z., Kazantzoglou G., Magiatis P., Kouretas D. (2007), *Cytogenetic effects of grape extracts (Vitis vinifera) and polyphenols on mitomycin C-induced sister chromatid exchanges (SCEs) in human blood lymphocytes*, J. Agric. Food Chem., 55, 5246-5452.
- 65-** Rasouli H., Farzaei M. H., Reza Khodarahmi R. (2017), *Polyphenols and their benefits: A review*, International Journal of Food Properties, 20, S1700-S1741.

- 66-** RAJBHAR K., DAWDA H., MUKUNDAN H. (2015), *POLYPHENOLS: METHODS OF EXTRACTION*, Revs. Chem. Commun, 5 (1) , 1-6.
- 67-** 20. Renoe B. (1994), American Laboratory, 34-40.
- 68-** Routray W., Orsat V. (2012), Food and Bioprocess Technol., 5(2), 409-424.
- 69-** Musielak G., Mierzwa D., Kroehnke J. (2016), *Trends in Food Science & Technology Food drying enhancement by ultrasound-A review*, Trends Food Sci. Technol., 56, 126-141.
- 70-** Tiwari B.K. (2015), *Trends in Analytical Chemistry Ultrasound: A clean, green extraction technology*, Trends Anal. Chem., 71, 100-109.
- 71-** Karim ASSAMI (2014), *Extraction assistée par ultrasons des huiles essentielles et arômes du Carum carvi L. d'Algérie*, Thèse doctorat, Université des Sciences et de la Technologie -Houari Boumediene.
- 72-** El Gharras H. (2009), *Polyphenols: food sources, properties and applications – a review*, International Journal of Food Science and Technology, 44, 2512-2518.
- 73-** Manach C., Scalbert A., Morand C., Rémésy C., Jiménez L. (2004), *Polyphenols: food sources and bioavailability*, American Society for Clinical Nutrition, 79, 727-47.
- 74-** Belaid K., Potgieter L. J., Amrani S., Zizi M., Gherbi H. (2022), *Casuarina species in Algeria: Reviewing identity, distribution and symbiotic status*, Bois et Forêts des Tropiques, 351, 15-28.
- 75-** APG-The Angiosperm Phylogeny Group, Chase M. W., Christenhusz M. J. M., Fay M. F., Byng J. W., Judd W. S., et al. (2016). *An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV*, Botanical Journal of the Linnean Society, 181, 1-20.
- 77-** Hadjaj K., Letreuch Belarouci A. (2017), *Synthèse bibliographique sur le thuya de berbérie [Tetraclinis articulata (Vahl) Mast.]*, Geo-Eco-Trop, 41, 13-27.
- 78-** EL MOURIDI M. (2011), *Caractérisation mécanique de la loupe de thuya (Tetraclinis Articulata (Vahl) Masters) en vue de sa valorisation*, Thèse doctorat, Université Mohammed V.
- 79-** Hadjadj-Aoul S., Chouieb M., Loisel R. (2009), *Effet des facteurs environnementaux sur les premiers stades de la régénération naturelle de Tetraclinis articulata (Vahl Master) en Oranie (Algérie)*, Ecologia mediterranea, 35, 19-31.
- 80-** Leslie JACQUEMIN (2012), *Production d'hémicelluloses de pailles et de sons de blé à une échelle pilote : Étude des performances techniques et évaluation environnementale d'un agro-procédé*, Thèse doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse).
- 81-** Bourdeau A., Ménard G. (1992), *Le blé, éléments fondamentaux et transformation*, Laval, Les Presses de l'Université de Laval.
- 82-** Fiche technique bain à ultrason WUC-D10H®.
- 83-** Belkhodja H., Belmimoun A., Meddah B. (2016), *Extraction and analysis of biologically active compounds in different Algerian honeys*, Journal of Apitherapy.
- 84-** Monzón L., Becerra G., Aguirre E., Rodríguez G., Villanueva E. (2021), *Ultrasound-assisted extraction of polyphenols from avocado residues: Modeling and optimization using response surface methodology and artificial neural networks*, Scientia Agropecuaria, 12 (1), 33-40.
- 85-** Ardestani A., Yazdanparast R. (2007), *Flavonoids as potential therapeutic agents for type 1 diabetes Medical Hypotheses*. Article in Press.

- 86-** Galvan d'Alessandro L., Kriiaa K., Nikov I., Dimitrov K. (2012), *Ultrasound assisted extraction of polyphenols from black chokeberry*, Separation and Purification Technology, 93, 42-47.
- 87-** Tomšik A., Pavlic B., Vladic J., Ramic M., Brindza J., Vidovic S. (2016), *Optimization of ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from wild garlic (Allium ursinum L.)*, Ultrason. Sonochem., 29, 502-511.
- 88-** Muñoz-márquez D. B., Martínez-ávila G. C., Wong-paz J. E., Belmares-cerda R., Rodríguez-herrera R., Aguilar C. N. (2013), *Ultrasonics Sonochemistry Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Laurus nobilis L. and their antioxidant activity*, Ultrason. Sonochem., 20, 1149-1154.
- 89-** Selin Sahin R.S. (2013), *Optimization of olive leaf extract obtained by ultrasound-assisted extraction with response surface methodology*, Ultrason. Sonochem., 20, 595-602.
- 90-** Katsampa P., Valsamedou E., Grigorakis S., Makris D. P. (2015), *A green ultrasound-assisted extraction process for the recovery of antioxidant polyphenols and pigments from onion solid wastes using Box-Behnken experimental design and kinetics*, Ind. Crops Prod., 77, 535-543.
- 91-** Corbin C., Fidel T., Leclerc E. A., Barakzoy E., Sagot N., Falguières A., Renouard, S., Blondeau J. P., Ferroud C., Doussot J. (2015), *Development and validation of an efficient ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from flax (Linum usitatissimum L.) seeds*, Ultrason. Sonochem., 26, 176-185.
- 92-** Hossain M. B., Brunton N. P., Patras A., Tiwari B., Donnell C. P. O., Martin-diana A. B., Barry-ryan C. (2012), *Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (Origanum majorana L.) using response surface methodology*, Ultrason. Sonochem., 19, 582-590.
- 93-** Tao Y., Wu D., Zhang Q., Sun D. (2014), *Ultrasound-assisted extraction of phenolics from wine lees: Modeling, optimization and stability of extracts during storage*, Ultrason. Sonochem., 21, 706-715.
- 94-** Al-dhabi N. A., Ponnurugan K., Maran P. (2017), *Development and validation of ultrasound-assisted solid-liquid extraction of phenolic compounds from waste spent coffee grounds*, Ultrason. Sonochem., 34, 206-213.
- 95-** Carrera C., Ruiz-rodríguez A., Palma M., Barroso C. G. (2012), *Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes*, Anal. Chim. Acta, 732, 100-104.
- 96-** Celli G. B., Ghanem A., Brooks M. S. (2015), *Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins from haskap berries (Lonicera caerulea L.) using Response Surface Methodology*, Ultrason. Sonochem., 27, 449-455.
- 97-** Tao Y., Zhang Z., Sun D. (2014), *Kinetic modeling of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from grape marc: Influence of acoustic energy density and temperature*, Ultrason. Sonochem., 21, 1461-1469.
- 98-** Sousa A. D., Maia A. I. V., Rodrigues T. H. S., Canuto K. M., Ribeiro P. R. V., Pereira R. D. C. A., Vieira R. F., Brito E. S. (2016), *Ultrasound-assisted and pressurized liquid extraction of phenolic compounds from Phyllanthus amarus and its composition evaluation by UPLC-QTOF*, Ind. Crops Prod., 79, 91-103.

- 99-** Vilku K., Mawson R., Simons L., Bates D. (2008), *Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry—A review*, *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.*, 9, 161-169.
- 100-** Chen M., Zhao Y., Yu S. (2015), *Optimisation of ultrasonic-assisted extraction of phenolic compounds, antioxidants, and anthocyanins from sugar beet molasses*, *Food Chem.*, 172, 543-550.
- 101-** Mkadmini K., Jdey A., Abdelly C., Majdoub H., Ksouri R. (2015), *Optimization of ultrasound-assisted extraction of antioxidant compounds from Tunisian Zizyphus lotus fruits using response surface methodology*, *Food Chem.*, 184, 80-89.

Résumé

Objectifs : Les objectifs de notre étude étaient d'étudier l'efficacité de l'extraction assistée par ultrasons des polyphénols de certaines matrices végétales de la région de Tlemcen et d'optimiser les variables expérimentales (type de solvant, puissance ultrasonique, température, temps de sonication ainsi que le rapport liquide-solide) pour maximiser le rendement d'extraction de ces composés phénoliques.

Matériel et méthodes : Nous avons lancé une étude expérimentale analytique au niveau du Laboratoire des Technologies de Séparation et de Purification-Tlemcen, qui a porté sur 3 matrices végétales à savoir : le son du blé, le filao et le cyprès. Ces matrices ont fait l'objet d'une extraction assistée par ultrasons en faisant varier les conditions expérimentales : temps d'extraction, puissance de la radiation ultrasonore, type du solvant, rapport soluté/solvant et la température. Les extraits obtenus ont été analysés par spectrophotométrie entre 200 et 800 nm et les rendements correspondants -en polyphénols et flavonoïdes- ont été calculés à l'aide de courbes d'étalonnage de référence.

Résultats : Parmi les solvants utilisés pour l'extraction, le cyclohexane et le chloroforme donnent les meilleurs résultats avec une durée optimale de 30 minutes. Dans le cas du Cyprès, le chloroforme était préférable ; par contre, pour le Filao et le son du blé, le cyclohexane était plus efficace. Les rendements les plus élevés en polyphénols et en flavonoïdes sont obtenus avec la masse la plus faible (0,01 g) et pour une même radiation, ils diminuent avec l'augmentation de la masse utilisée. D'autre part, le rendement de l'extraction en fonction du pourcentage de la radiation ne suit pas une fonction croissante et le ΔT est proportionnel à l'importance de la radiation.

Conclusion : L'extraction par ultrasons est présentée comme une méthode attrayante pour tirer profit des polyphénols des matrices végétales étudiées. Cette étude doit être poursuivie et complétée en variant d'autres paramètres et en les optimisant afin de maximiser le contenu phénolique pour une éventuelle mise à l'échelle du processus d'extraction.

Mots clés : Ultrasons, extraction, polyphénols, flavonoïdes, matrice végétale.

Summary

Objectives: The objectives of our study were to study the efficiency of ultrasound assisted extraction of polyphenols from some plant matrices of the Tlemcen region and to optimize the experimental variables (type of solvent, ultrasonic power, temperature, sonication time as well as the liquid-solid ratio) to maximize the extraction yield of these phenolic compounds.

Material and methods: We launched an experimental analytical study at the Laboratory of Separation and Purification Technologies-Tlemcen, which focused on 3 plant matrices namely: wheat bran, filao and cypress. These matrices have been extracted by ultrasound by varying the experimental conditions: extraction time, power of ultrasound radiation, type of solvent, solute / solvent ratio and temperature. The extracts obtained were analyzed by spectrophotometry between 200 and 800 nm and the corresponding yields -in polyphenols and flavonoids- were calculated using reference calibration curves.

Results: Of the solvents used for extraction, cyclohexane and chloroform gave the best results with an optimum duration of 30 minutes. In the case of Cypress, chloroform was preferable; however, for Filao and wheat bran, cyclohexane was more efficient. The highest yields of polyphenols and flavonoids were obtained with the lowest mass (0.01 g) and for the same radiation, they decreased with the increase of the mass used. On the other hand, the extraction yield as a function of the percentage of radiation does not follow an increasing function and the ΔT is proportional to the importance of radiation.

Conclusion: Ultrasonic extraction is presented as an attractive method to take advantage of the polyphenols in the plant matrices studied. This study needs to be continued and completed by varying other parameters and optimizing them to maximize the phenolic content for eventual scaling of the extraction process.

Keywords: Ultrasound, extraction, polyphenols, flavonoids, plant matrix.

موجز

الهدف: كانت أهداف دراستنا هي دراسة كفاءة الاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية للبوليفينول من مصفوفات نباتية معينة في منطقة تلمسان وتحسين المتغيرات التجريبية (نوع المذيب والطاقة فوق الصوتية ودرجة الحرارة ووقت الصوت بالإضافة إلى نسبة السائل إلى الصلب) لتعظيم كفاءة

استخراج هذه المركبات الفينولية. المواد

والطرق: أطلقنا دراسة تجريبية تحليلية في مختبر تقنيات الفصل والتنقية، ركزت على ثلاث مصفوفات نباتية: نخالة القمح والقيالو والسرو. تم إخضاع هذه المصفوفات للاستخراج بمساعدة الموجات فوق الصوتية من خلال تغيير الظروف التجريبية: وقت الاستخراج، وقوة الإشعاع فوق الصوتي، ونوع المذيب، ونسبة المذاب/المذيب ودرجة الحرارة. تم تحليل المستخلصات التي تم الحصول عليها عن طريق قياس الطيف بين 200 و

800 نانومتر وتم حساب الغلة المقابلة - في البوليفينول والفانويديز - باستخدام منحنيات المعايرة المرجعية.

النتائج: من بين المذيبات المستخدمة في الاستخراج، يعطي الهكسان الحلقي والكلوروفورم أفضل النتائج بمدة مثلى تبلغ 30 دقيقة. وفي حالة السرو، يفضل استخدام الكلوروفورم؛ في حالة Filao ونخالة القمح، كان cyclohexane أكثر فعالية. يتم الحصول على أعلى غلة في البوليفينول والفانويديز بأقل كتلة (0.01 جم) ولنفس الإشعاع تنخفض مع زيادة الكتلة المستخدمة. من ناحية أخرى، فإن كفاءة الاستخراج كدالة للنسبة المئوية للإشعاع ال تتبع

وظيفة متزايدة وتتناسب ΔT مع أهمية الإشعاع. **الاستنتاج:**

يتم تقديم استخراج الموجات فوق الصوتية بطريقة جذابة للاستفادة من البوليفينول من مصفوفات النبات المدروسة. يجب مواصلة هذه الدراسة واستكمالها من خلال تغيير البارامترات الأخرى وتحسينها من أجل زيادة المحتوى الفينولي إلى أقصى حد من أجل التوسع المحتمل لعملية الاستخراج.

الكلمات الرئيسية: الموجات فوق الصوتية، الاستخراج، البوليفينول، الفانويديز، مصفوفة النبات.