

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريش
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
قسم العلوم البيولوجية
Département des Sciences Biologiques

Mémoire
En vue de l'obtention du diplôme de Master
Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Biochimie

Optimisation des conditions d'extraction des composés
phénoliques et de la capacité antioxydante des feuilles de
laurier à l'aide de la méthodologie de surface de réponse

Présenté par : Bahlouli chaima

Ben maammar Amel

Président	Mme BENOUADAH Zohra	MCB	Université de B.B.A
Encadrant	Mr TOUATI Nouredine	MCA	Université de B.B.A
Examinatrice	Mme BOULKROUNE Hasna	MCB	Université de B.B.A

Année universitaire : 2021 / 2022

Remerciements

Tout d'abord, nous voulons remercier Dieu de nous avoir donné la saute, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de Master et de pouvoir réaliser ce travail de recherche

Nous voudrions remercier notre encadrant de mémoire Monsieur TOUATI Nouredine pour sa disponibilité, sa confiance et pour ses remarques et conseils.

Nous remercions Docteur BENOUADAH Zohra d'avoir bien voulu accepter de présider le présent jury de soutenance.

Nous remercierons également Docteur BOULKROUNE Hasna examinatrice, qui a bien voulu juger et apprécier ce travail

Nous remercions tous nos professeurs qui nous ont enseigné durant nos études

Dédicace

Je dédie ce travail

A mes chers parents

Aucun hommage ne pourrait être à la hauteur de l'amour et de l'affection dont ils n'ont cessé jamais de me combler. Qu'ils trouvent dans ce travail un témoignage de mon profond amour et éternelle reconnaissance. Que dieu leur procure longue vie et bonne santé.

A ma grand-mère

C'est la personne la plus idéale au monde à mes yeux. C'est vrai qu'elle n'est pas avec nous pour récolter les fruits de son soutien et de sa motivation, mais elle restera toujours dans mon cœur

A mon frère Karim, mes sœurs Khalissa et Chaima, et ma cousine Sabrina qui m'ont chaleureusement soutenus lors de la réalisation de cet humble travail.

A mes chères amies

En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble.

A ma binôme Chaima

Amel

Dédicace

JE dédie ce modeste travail

A chères parents

A mes chères sœurs et frères

A mes petites nièces

A toute ma famille

A ma binôme Amel

Chaïma

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction1

partie bibliographique

I. Présentation de *Laurus nobilis*3

I.1 Généralités3

I.2. Origine et distribution4

I.3 Classification.....4

I.4. Description botanique4

I.5. Composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis*5

I.6. Utilisations des feuilles de *Laurus nobilis*6

II. Extraction assistée par micro-ondes7

II.1. Historique7

II.2. Généralité.....7

II.3. Principe8

II.4. Instrumentation8

II.5. Avantages et inconvénients9

III. Méthodologie de surface de réponse10

III.1. Généralité10

III.2. Terminologie10

III.2.1. Définition du plan d'expérience10

III.2.2. Facteurs ou variables indépendantes.....10

III.2.3. Réponses ou variables dépendantes10

III.2.4. Niveaux de facteurs codés Dans les plans de dépistage10

III.2.5. Plans de surface de réponse11

III.3. Étapes pour l'application de MSR12

III.4. Avantages et inconvénients du MSR12

Partie experimental

I. Matériel et méthodes	14
I.1 préparation de la matière végétale	14
I.2. Extraction assistée par micro-onde	14
I.3. Paramètres de réponse.....	15
1.3.1 Dosage des polyphénols.....	15
I.3.2. Pouvoir réducteur	15
I.4. Conception expérimentale	16
I.5. Analyse statistique	18
I.6. Vérification du model	18
1.7. Dosage des antioxydants et évaluation de la capacité antioxydante	18
1.7.1. Dosage des flavonoïdes.....	18
I.7.2. Dosage des tannins	19
I.7.3. Activité antiradicalaire DPPH	19
II. Résultats et discussion	21
II.1. Construction du plan d'expérience	21
II.2. Modélisation de la réponse	23
II.2.1. Effet des facteurs.....	25
II.2.2. Modèle mathématique	26
II.3. Analyse de surface de réponse.....	27
II.4. Validation de modèle.....	30
II.5. Antioxydants et l'évaluation de la capacité antioxydante	31
II.5.1. Polyphénols totaux	31
II.5.2. Flavonoïdes totaux	31
II.5.3. Tannins condensés.....	32
II.5.4. Évaluation de l'activité antiradicalaire DPPH	32
conclusion	33
Références bibliographique	35
Annexes	

Liste des figures

Figure 1: Distribution de la famille des lauracées à travers le monde.....	3
Figure 2: Aspect morphologique de <i>Laurus nobilis</i>	4
Figure 3: Spectre électromagnétique	7
Figure 4: Équipements de Micro-Onde	8
Figure 5 : Domaine de variation du facteur.....	11
Figure 6: (a) Trace de contour 2d , (b) Trace de surface de réponse 3d.....	12
Figure 7: Graphiques des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour les teneurs en PPT et le PR de poudre des feuilles de laurier noble.....	23
Figure 8: Graphiques de surface de réponse montrant l'effet de concentration et la puissance et le temps sur les PPT et le PR des feuilles de <i>Laurus nobilis</i>	29
Figure 9: Valeurs des paramètres optimaux de l'extraction des PPT et le PR	31

Liste des tableaux

Tableau I : Classification botanique de laurier	4
Tableau II: Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par micro-ondes	16
Tableau III: facteurs et niveaux pour la MSR, matrice de conception de box-behnken (niveau code et non code), les valeurs expérimentales et prédites des PPT et de PR des feuilles de laurier.....	22
Tableau IV: Analyse de la variance du modèle et des défauts d'ajustement pour les PPT et du PR des feuilles de laurier	24
Tableau V: Estimation des coefficients de régression du modèle polynomiale de deuxième degré	25

Liste des abréviations

ANOVA : Analyse de la variance .

BBD : Box Behnken Design .

CCM : chromatographie sur couche mince.

CPG : chromatographie en phase gazeuse.

DPPH : 1,1-Diphényle-2-picryl Hydrazyle.

EAM : Extraction Assistée par micro-onde .

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

JMP: John's Machintosh Project .

LSD : Lysergsäurediethylamid

MSR : Méthode de Surface de Réponse.

MS: Matière sèche

PPT : composés phénoliques totaux.

PR : pouvoir réducteur.

R² : Coefficient de détermination.

TPSL : Total phenolics from sweet potato leaves.

Introduction

Les plantes ont été employées pendant des siècles comme remèdes pour les maladies humaines et animales grâce à leur richesse en composants de valeur thérapeutique. Le pouvoir de guérison des plantes provient des effets de leurs métabolites secondaires. Ces métabolites interviennent dans la défense contre les différentes pathologies. Parmi ces métabolites on peut citer les composés phénoliques (**Khadhri et al., 2013**). Elles présentent des avantages dont les médicaments sont souvent dépourvus (**Larousse, 2001**).

Les polyphénols sont un groupe de composés qui présentent un intérêt comme agents antioxydants et sont donc largement responsables de l'activité antioxydante. Ils sont des composés simples à hautement polymérisés qui peuvent également être associés à divers autres composants, ce qui rend leur récupération un processus difficile (**Dobroslavić et al., 2021**).

Le laurier noble est un arbre à feuillage persistant, d'une part leur feuilles séchées contiennent des huiles essentielles qui sont largement utilisées comme épice, et aromatisant précieux dans l'industrie culinaire et agro-alimentaire. D'autre part l'extrait aqueux est utilisé en médecine traditionnelle comme antirhumatismale, et diurétique grâce à la présence d'une large gamme de composés phytochimiques tel que les acides phénoliques, et les flavonoïdes. L'existence des composés phénoliques dans laurier lui confère la propriété d'être une bonne source d'antioxydants naturels, et un antimicrobien efficace (**Muñiz Márquez et al., 2013**).

La composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis* L. a été plus étudiée que celles des autres parties de la plante. Les feuilles de *Laurus nobilis* L. comprennent les huiles essentielles susmentionnées, des alcaloïdes, des norisoprénoïdes, des sucres, des polysaccharides, des acides organiques, des tocophérols et une large gamme de polyphénols, notamment différents flavonoïdes, acides phénoliques, tanins et lignanes (**Dobroslavić et al., 2021**).

Il existe diverses techniques pour récupérer ces composés ; parmi ces techniques l'extraction assistée par micro-ondes (EAM). Dans l'EAM, la rotation dipolaire induite par le rayonnement des ondes électromagnétiques conduit à un échauffement homogène de l'échantillon, ce qui conduit à la perturbation de la cellule végétale et à la libération des composés ciblés de la matrice végétale.

L'extraction des composés phénoliques est influencée par nombreux facteurs contribuent à l'efficacité d'extractions telles que le type de solvant, la concentration de solvant, la température, le temps, le pH et le ratio (solide-liquide).

La méthodologie de surface de réponse (MSR) est une collection de données statistiques et techniques mathématiques utiles pour développer, améliorer et optimiser les processus, dans laquelle une réponse d'intérêt est influencée par plusieurs facteurs (variables indépendantes). MSR ne définit que les effets des variables indépendantes, mais génère également un calcul mathématique modèle, qui décrit les processus chimiques ou biochimiques. (**Liu *et al.*, 2010 a ; Lyanapathirana et Shahidi, 2005 ; Radojkovica *et al.*, 2012**).

L'objectif de ce travail porte sur l'optimisation des conditions d'extraction des composés phénoliques à partir de la poudre des feuilles de laurier en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MSR).

Le présent mémoire est divisé en deux grandes parties, à savoir la partie bibliographique où il est rapporté les connaissances générales sur la plante de laurier, sur l'extraction assistée par micro-onde et sur la méthodologie de surface de réponse ; et la partie expérimentale dont le les matériels et méthodes utilisés ainsi les résultats obtenus et leur discussion. Le tout s'achève par une conclusion et quelques perspectives.

Partie bibliographique

I. Présentation de *Laurus nobilis*

I.1 Généralités

Laurus nobilis L., membre de la famille des lauracées qui renferme 32 genres et environ 2000-2500 espèces (**Barla et al., 2007**). *Laurus*, nom latin, d'origine celte qui veut dire « toujoursvert » allusion au feuillage persistant de la plante (**Pariente, 2001**). Les feuilles sont largement appliquées et connues comme assaisonnement et herbe médicinale depuis les périodes antique grec et romain (**Demir et al., 2004**). Il est intéressant de noter que cette herbe qui était pendant longtemps employée dans la nourriture comme condiment et en médecine traditionnelle a, en fait, des propriétés qui peuvent suggérer de nouvelles applications (**Ferreira et al., 2006**).

I.2. Origine et distribution

Originnaire du bassin méditerranéen, *Laurus nobilis* pousse dans les lieux humides et ombragés, mais également dans les jardins, où elle est cultivée comme condiment (**Iserin, 2001**). Actuellement, la plante est largement cultivée dans beaucoup de pays comme plante ornementale et pour la production commerciale tels que la Turquie, l'Algérie, la France, la Grèce, le Maroc, l'Amérique centrale et les États-Unis Méridionaux (figure 1) (**Demiret al., 2004; Barla et al., 2007**).

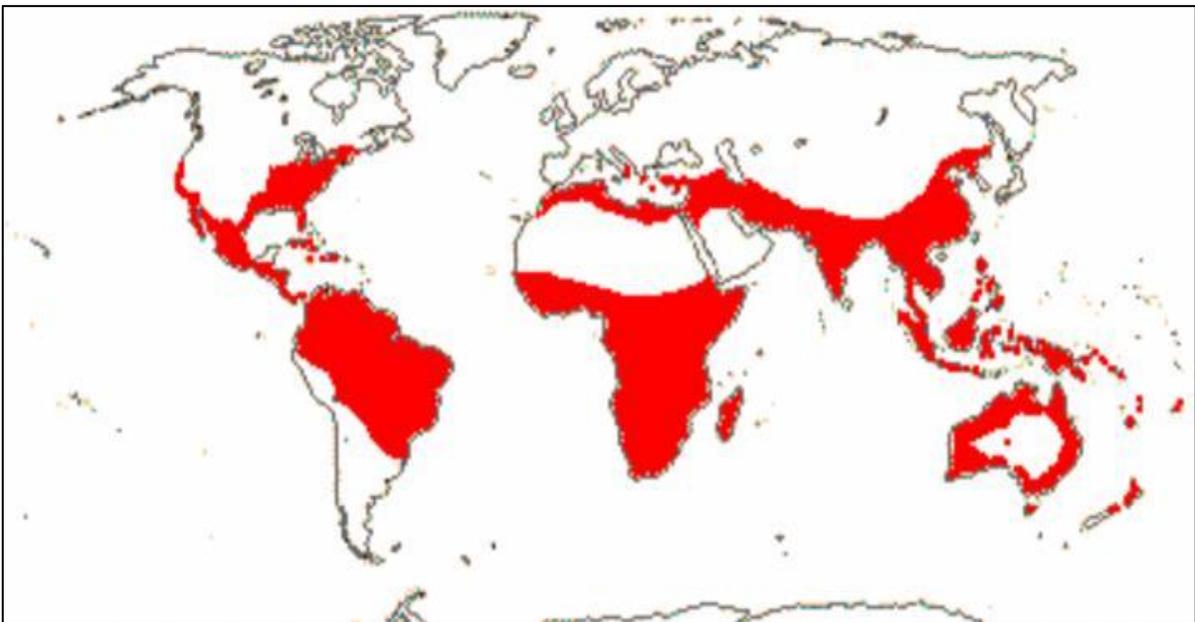


Figure 1: Distribution de la famille des lauracées à travers le monde.

I.3 Classification

Ce classement se réfère à la classification botanique antérieure (Quezel et santa, 1962)

Tableau I : Classification botanique de laurier

Règne :	Plantae
Sous règne :	Viridaeplantae
Division :	Magnoliophytae
Classe :	Equisetopsida
Sous classe :	Magniliidae
Ordre :	Laurales
Famille :	Lauraceae
Genre :	<i>Laurus L.</i>
Espèce :	<i>Laurus nobilis L.</i>

I.4.Description botanique

La plante est constituée par les organes suivants (fig 2):



Figure 2: aspect morphologique de laurus nobilis (Beloued ,2005).

➤ Ecorce et tiges

Les tiges des rameaux sont vertes et dirigées vers le haut. Au début de sa croissance, le tronc possède une écorce vert olive à noire qui deviendra grise au fil des années. La

constitution d'une écorce véritable nécessite plusieurs années (Geerts *et al.*, 2002 ; Botineau et Pelt , 2015).

➤ **Bourgeons et branches**

Bourgeons coniques, étroits (2-4 mm de long), verts et teintés de rouge Branches ascendantes, densément feuillues ; jeunes pousses grêles, glabres, vert teinté de rouge (Stursa , 2001) .

➤ **Feuilles**

Le feuillage est persistant avec des feuilles aromatiques, simples, alternes et coriaces dont le pétiole mesure de 2 à 5cm, longues de 5 à 12cm et large de 2 à 6 cm. Elles sont lancéolées, légèrement ondulées et entaillées au bord ; de couleur vertes foncées, brillantes sur la face supérieure et verte clair au - dessous avec des nervures latérales pennées et rougeâtres (Quezel et santa, 1963).

➤ **Fleurs et fruits**

Sont dioïques de 0,4 à 0,8 cm unisexuées avec une couleur jaune verdâtre, à périanthe simple soudé à la base. Groupé en 4 à 6 ombelles. Les fleurs mâles possèdent 8 à 12 étamines rudimentaires et les fleurs femelles sont dotées d'un ovaire hypogyne à un compartiment avec un stigmate en trois parties. Le fruit est une baie ovoïde, soutenue par le tube périanthaire peu dilaté. De 2cm de longueur 1cm de largeur, le fruit est noir vernissé renfermant une seule graine libre (Beloued , 2005) . Le mésocarpe charnu renferme de l'huile et des cellules à huile essentielle. Les cotylédons épais sont également riches en lipides (Myose et Paris , 1976) .

➤ **Forme et hauteur**

Arbustes ou arbrisseau à couronne, large et compacte atteint 15 m de haut (Geerts *et al* ., 2002).

I.5. Composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis*

De nombreuses études ont été réalisées pour la détermination de la composition chimique des feuilles de *Laurus nobilis* et plusieurs ont prouvé la richesse de ses feuilles en substances actives . Par hydrodistillation les feuilles fournissent environ 10-30 ml / Kg (1-3 %) d'huile essentielle (Bruneton.,1999 , Demir *et al* . , 2004) dont les constituants majoritaires inclut : cinéol, I et ü pinène , sabinène, linalol , eugénol , terpinéol , plus d'autres esters et

terpenoïdes , mais dont les proportions varient selon l'origine géographique (**Iserin 2001 Sayyah et al . , 2002 Demir et al . , 2004**) . Les feuilles de *Laurus nobilis* contiennent aussi des flavonoïdes polaires (dérivées glycosylées de quercétine , kaempferol et de catéchine) et apolaires (quatre dérivés acylés de kaempferol (**Fiorini et al., 1998 ; Kivçak et Mert, 2002**) , sesquiterpènes lactones , alcaloïdes d'isoquinoline (**Kivçak et Mert , 2002 ; Simic et al., 2003**) , en plus **Demo et al . , (1998)** et **Gómez-Coronado et al . , (2004)** ont montré la richesse de ses feuilles en vitamine E.

I.6. Utilisations des feuilles de *Laurus nobilis*

Les feuilles de *Laurus nobilis* sont parmi les assaisonnements les plus connus dans tous les pays, elles sont généralement utilisées comme épice valable en culinaire (en potages, ragoûts, sauce, etc) et aromatisant en industrie alimentaire. Cette plante a aussi des applications importantes en médecine traditionnelle et représente récemment un met de recherche

scientifique intéressant (**Sinic et al., 2003**) , le laurier est principalement utilisé , par voie orale, dans le traitement symptomatique des troubles de l'appareil digestif supérieur tels que le ballonnement épigastrique , lenteur de la digestion , éructations et flatulence (**Iserin , 2001**) . L'extrait aqueux est utilisé dans la médecine traditionnelle turque en tant qu' qu'antihémorroïdal, antirhumatismal, diurétique et comme un antidote dans des morsures de serpent et pour le traitement du mal d'estomac (**Kivçak et Mert. 2002**). Dans la médecine traditionnelle iranienne, les feuilles de cette plante ont été employées pour traiter l'épilepsie et le parkinsonisme (**Aqili Khorasani, 1992**) . L'huile essentielle obtenue des feuilles de cette plante a été employée pour le soulagement d'hémorroïdes et des douleurs rhumatismales (**Sayyah et al . , 2002**) . En outre, l'huile essentielle est employée par l'industrie cosmétique en parfumerie et dans la fabrication des savons. Elle compte parmi les meilleurs moyens d'éloigner les insectes gênants (**Demir et al . , 2004 Beloued . 2005**) .

II. Extraction assistée par micro-ondes

II.1. Historique

Le micro-ondes a été inventé par le Dr Percy LeBaron Spencer. La technologie derrière le micro-ondes a été découverte par accident lorsque Spencer a remarqué que sa barre chocolatée avait fondu alors qu'il travaillait sur un projet lié au radar. Il fit cette découverte, peu après la Seconde Guerre mondiale, en 1946. Lorsque la découverte de la possibilité d'utiliser un four à micro-ondes pour chauffer les aliments a été découverte, des unités ont été produites pour des applications commerciales. Bien qu'ils n'aient pas eu un succès instantané, de nouvelles itérations du produit ont vu des unités domestiques produites à la vente. (Gallawa, 2007).

II.2. Généralité

Les micro-ondes sont des ondes électromagnétiques, possédant un champ électrique et magnétique perpendiculaires l'un par rapport à l'autre, qui se propagent dans le vide avec des fréquences situées entre 300 MHz et 300 GHz. Néanmoins, dans le but d'éviter des interférences avec les radiocommunications et les radars, les micro-ondes domestiques et industrielles sont généralement utilisées à une fréquence de 2.45 GHz (Camel, 2000). Les micro-ondes sont positionnées sur le spectre électromagnétique entre les infrarouges et les radiofréquences, avec des valeurs de longueurs d'ondes comprises entre 1 cm et 1 m (Figure 3).

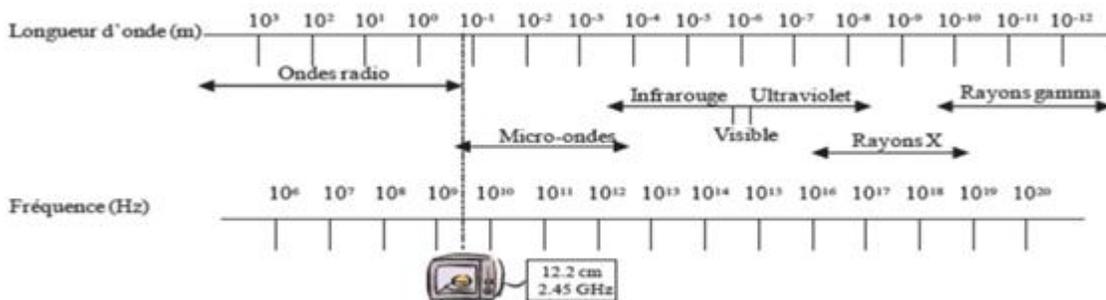


Figure 3: Spectre électromagnétique (sahin et sumnu, 2006)

II.3. Principe

L'extraction assistée par micro - ondes (EAM) offre une rapide production d'énergie dans le volume total de solvant ainsi que dans la matrice végétale. Ceci provoque donc une montée en température efficace et homogène à la fois du solvant et du solide à extraire (**Golmakani et Rezaei, 2008**). L'absorption par l'eau, présente à l'intérieur des tissus, de l'énergie libérée par les micro-ondes provoque la destruction des cellules par une forte montée de la température localement, ce qui facilite alors la désorption des composés chimiques de la matrice vers le solvant. Ces phénomènes provoqués par les micro-ondes permettent alors d'améliorer le rendement d'extraction (**Ferhat *et al.*, 2006**) . Cependant, l'effet de l'énergie micro - onde dépend fortement des propriétés diélectriques du solvant et aussi de la matrice de la plante (**Stalikas, 2010**). Plusieurs paramètres doivent donc être pris en compte pour une optimisation de cette technique d'extraction.

II.4. Instrumentation

Le développement rapide des processus EAM a incité divers fournisseurs à proposer des systèmes à micro-ondes améliorés et des instruments connexes pour le processus d'extraction. La plupart des extracteurs à micro-ondes disponibles sont des systèmes construits en laboratoire et basés sur un four à micro-ondes domestique (figure 4). La plupart des systèmes à micro-ondes commerciaux sont équipés d'un contrôle de la température avec un système de surveillance et un contrôle de la pression (**Chan *et al.*, 2011**).

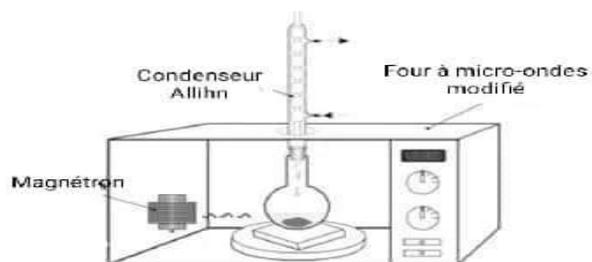


Figure 4: Equipements de Micro-Onde

II.5. Avantages et inconvénients

L'extraction assistée par micro-ondes est adaptée aux composés, et est reconnue comme une technique d'extraction polyvalente et efficace des métabolites secondaires des plantes. Par rapport à l'extraction classique, l'extraction assistée par micro-ondes montre généralement des avantages évidents avec un temps d'extraction plus court, un rendement d'extraction plus élevé, une plus grande sélectivité et une meilleure qualité des extraits cibles. En considérant les aspects économiques et pratiques, l'EAM est une nouvelle technique d'extraction solide pour l'extraction des nutraceutiques.

L'irradiation par micro-ondes peut accélérer les réactions chimiques ou les changements de certains métabolites secondaires cibles, et d'autres conditions opérationnelles (par exemple, une pression d'extraction élevée) de l'extraction assistée par micro-ondes peuvent modifier les structures chimiques des composés cibles, ce qui peut entraîner une réduction du rendement d'extraction. En outre, l'efficacité des micro-ondes peut être très faible lorsque les composés cibles ou les solvants sont non polaires, ou lorsqu'ils sont volatils (**Zhang *et al.*, 2011 ; Wang et Weller, 2006**).

III. Méthodologie de surface de réponse

III.1. Généralité

La MSR est une méthode statistique utile pour l'optimisation de réactions chimiques et / ou procédés industriels largement utilisés pour les plans d'expériences, et pour optimiser les processus pertinents et longs (**Arslan – Alaton *et al.* , 2009**) .

III.2. Terminologie

III.2.1. Définition du plan d'expérience

Les plans d'expériences devraient faire partie du bagage scientifique de tout expérimentateur. En effet, ils servent à optimiser l'organisation des essais, qui permet d'obtenir le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences, et la meilleure précision sur la modélisation des résultats (**Goupy , 1999**). il existe beaucoup de plans d'expériences qui sont utilisés tels que le plan Box Behnken , Doehert , et le plan composite centré (CCD).

III.2.2. Facteurs ou variables indépendantes

Les facteurs ou les variables indépendantes sont des variables expérimentales qui peuvent être modifiées indépendamment les unes des autres. Les variables indépendantes typiques comprennent le pH, la température, la concentration des réactifs, le temps d'irradiation par micro-ondes, le débit, la température d'atomisation et la force d'éluion, entre autres (**Bezerra *et al.*, 2008**).

III.2.3. Réponses ou variables dépendantes

Sont les valeurs mesurées des résultats des expériences. Les réponses typiques sont le signal analytique (absorbance, intensité d'émission nette et signal électrique), la récupération d'un analyte, la résolution entre les pics chromatographiques, le pourcentage de carbone résiduel et l'acidité finale, entre autres. faibles valeurs résiduelles (**Bezerra *et al.*, 2008**).

III.2.4. Niveaux de facteurs codés Dans les plans de dépistage

Les facteurs sont généralement examinés à deux niveaux (-1, +1), avec des point centraux (codé 0) (figure 5). L'intervalle entre les niveaux est l'intervalle le plus large dans lequel le facteur peut être varié pour le système étudié et est choisi sur la base des informations de la littérature ou des connaissances antérieures (**Candiotti *et al.*, 2014**).



Figure 5 : Domaine de variation du facteur

III.2.5. Plans de surface de réponse

Avec les résultats expérimentaux d'un plan de surface de réponse un modèle polynomial, décrivant la relation entre une réponse et les facteurs considérés, est construit. Habituellement, un modèle polynomial du second ordre est construit. Ensuite, le modèle peut être interprété graphiquement et/ou statistiquement. Graphiquement, le modèle est visualisé en dessinant des courbes de niveau 2D ou des courbes de surface de réponse 3D. Un tracé de contour 2D (figure 6a) montre les lignes de réponse en fonction des niveaux de deux facteurs, tandis qu'un tracé de surface de réponse 3D (figure 6b) représente la réponse dans une troisième dimension. De tels graphiques permettent souvent de déduire les meilleures conditions ou les conditions optimales. Cependant, il faut savoir que, dans le cas où trois facteurs ou plus sont considérés, un tracé comme celui de la figure 6 ne représente qu'une partie (parfois très petite) de la surface totale dans le domaine examiné L'ajustement du modèle aux données peut être évalué statistiquement en appliquant l'une des deux méthodes suivantes. L'analyse de la variance (ANOVA), une analyse résiduelle ou une validation externe à l'aide d'un ensemble de tests. On peut également déterminer la signification des coefficients b dans le modèle ci-dessus, puis éliminer les coefficients non significatifs, par exemple, de manière séquentielle (**Dejaegher et Heyden, 2011**).

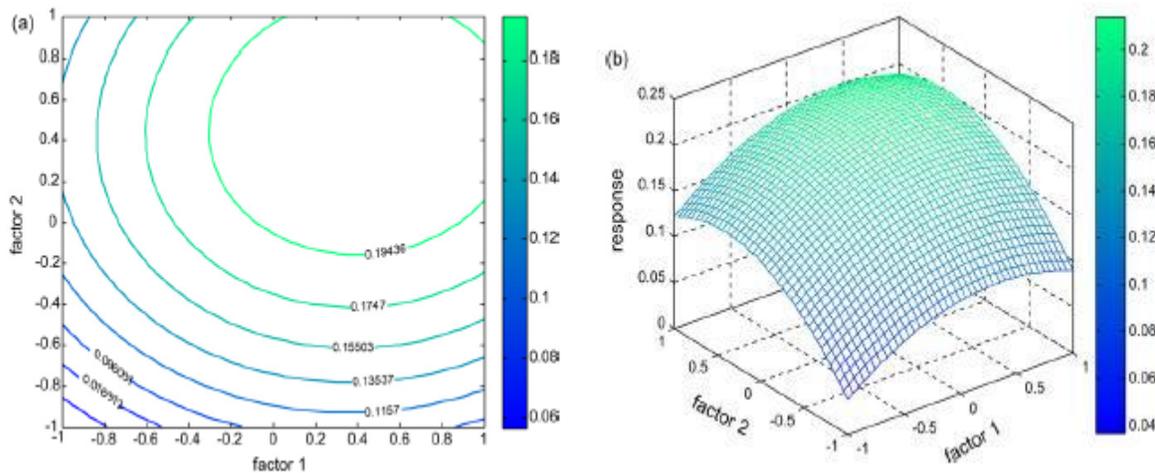


Figure 6:(a) Trace de contour 2d , (b) Trace de surface de réponse 3d

III.3. Étapes pour l'application de MSR

L'optimisation au moyen de l'approche MSR pourrait(1) sélection des variables indépendantes et des réponses possibles, (2) sélection de la stratégie de conception expérimentale, (3) exécution des expériences et obtention des résultats, (4) ajustement de l'équation du modèle aux données expérimentales, (5) obtention des graphiques de réponse et vérification du modèle (ANOVA), détermination des conditions optimales (**Witek-Krowiak et al., 2014**).

III.4. Avantages et inconvénients du MSR

Le MSR présente plusieurs avantages par rapport aux méthodes expérimentales ou d'optimisation classiques dans lesquelles la technique d'une variable à la fois est utilisée. Tout d'abord, le MSR offre une grande quantité d'informations à partir d'un petit nombre d'expériences. En effet, les méthodes classiques prennent beaucoup de temps et un grand nombre d'expériences est nécessaire pour expliquer le comportement d'un système. Deuxièmement, dans le MSR, il est possible d'observer l'effet d'interaction des paramètres indépendants sur la réponse. En particulier dans les processus biochimiques, l'effet d'interaction des paramètres serait plus critique, comme le synergisme, l'antagonisme et l'addition (MSR est un outil utile pour l'optimisation des processus chimiques et biochimique). D'un autre côté, l'inconvénient majeur du MSR est d'ajuster les données à un polynôme de

second ordre. Nous ne pouvons pas dire que tous les systèmes contenant une courbure sont bien adaptés par le polynôme du second ordre (**Radojkovića *et al.*, 2012**).

Partie expérimentale

I. Matériel et méthodes

I.1 préparation de la matière végétale

Les feuilles de *Laurus nobilis* L., ont été récoltées au mois de mars 2022 dans le village de Mansoura à Bordj Bou Arreridj, située à 45 Km du chef-lieu de la wilaya. Les feuilles récoltées dont le taux d'humidité est de 28%, sont rincées pour enlever toute impureté, séchées à l'aire libre, broyées et enfin tamisées (200 μ m). la poudre obtenue est hermétiquement conservée dans un flacon en verre à l'abri de la lumière jusqu'à son utilisation pour la réalisation des expériences de la présente étude.

I.2. Extraction assistée par micro-onde

Les polyphénols ont été extraits à partir des feuilles de laurier en utilisant un micro-onde domestique (NN-S674MF, Condor, Algérie) qui fonctionne à une fréquence de 2450 kHz et une puissance de sortie maximale de 1000 W avec une incrémentation de 100 W. La dimension de la cavité de chauffage est de (22.5 cm x 37.5 cm x 38.6 cm). L'appareil était équipé d'un système de contrôle numérique pour le temps et la puissance d'irradiation. L'appareil a été modifié afin de condenser les vapeurs générées lors de l'extraction.

Pour l'optimisation de la procédure d'extraction assistée par micro-ondes, les paramètres influençant le procédé d'extraction (concentration du solvant, puissance et temps d'irradiation) ont été sélectionnés suite à une recherche bibliographique. Une solution de 20 ml de solvant (éthanol - eau distillé) a été additionné à 0.2 g de poudre de feuilles de laurier dans une fiole de fond de 250 ml, elle a été fixé avec le condensateur à l'intérieur de micro-onde. L'extraction se diffère d'un essai à l'autre dans la concentration de solvant (20, 60, 100) et la puissance (100, 500, 900) et le temps d'irradiation (30, 120, 210), Les extraits ont été séparés par centrifugation à 3000 tr/min pendant 15 min et stockés à 4 °C jusqu'à utilisation. Un nombre de 15 essais ont été réalisés avant d'obtenir l'optimum, puis une extraction dans les conditions optimales obtenues par MSR a été réalisée. Pour les expériences de l'optimisation MSR et de validation du modèle, le rendement en PPT et le PR ont été pris en considération.

I.3. Paramètres de réponse

1.3.1 Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols totaux dans les extraits de feuilles de *Laurus nobilis* a été effectué spectrophotométriquement selon la méthode au réactif de Folin Ciocalteu (**Singleton et al. , 1999**).

Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait. Le réactif de Folin - Ciocalteu consiste en une solution jaune acide qui est formé d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMO_{12}O_4$) qui sont réduits lors de l'oxydation des composés phénoliques en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène ($MOSO_3$) . Cette solution absorbe à une longueur d'onde de 720 nm. Ainsi, le dosage des PPT se fait par comparaison de l'absorbance de la solution étudiée par rapport à celle obtenue par un étalon qui est l'acide gallique.

Un volume de 0,2 ml d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec dilution 1/4) est ajouté à 0.4 ml de la solution de Na_2CO_3 (75 mg / ml d'eau distillée) et 0,75 ml de la solution de Folin Ciocalteu (dilué dix fois dans l'eau distillée), après 15 min d'incubation à la température du laboratoire, l'absorbance est lue à 720 nm contre un blanc sans extrait. Le taux de polyphénols totaux dans nos extraits, a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = ax + b$) établie avec des concentrations précises d'acide gallique (0-200 $\mu g/l$) comme standard de référence, dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 100 gramme de matière sèche (mg EAG/100 g Ms).

I.3.2. Pouvoir réducteur

Le pouvoir réducteur est l'aptitude des antioxydants présents dans les extraits à réduire le fer ferrique (Fe^{3+}) du complexe $[FeCl_3/K_3Fe(CN)_6]$ en fer ferreux (Fe^{2+}). La forme réduite donne une couleur verte qui est proportionnelle au pouvoir réducteur de l'extrait (**Shon et al., 2003**) .

Un volume de 250 μl d'extrait (préparé dans l'eau distillée avec dilution 1/5) a été mélangé à 250 μl de solution tampon phosphate (0,2 M. pH 6,6) et à 250 μl de ferricyanure de

potassium à 1%. Le mélange a été incubé à 50 °C pendant 20 minutes au bain marie. En suite 250 µl de l'acide trichloracétique (10%) ont été ajoutés au mélange. Un volume de 1 ml d'eau distillée et 200 µl de chlorure ferrique FeCl₃ (0,1 %), l'absorbance de la solution résultante a été mesurée à 700 nm (**Pan et al . , 2010**). Les résultats sont exprimés en milligramme d'équivalent d'acide gallique par 100 gramme de matière sèche (mg EAG/100 g Ms).

I.4. Conception expérimentale

L'optimisation des conditions d'extraction des PPT et PR a été déterminé par la méthode de surface de réponse (MSR) en employant le plan de Box-Behnken de trois niveaux, pour évaluer l'effet combiné de trois variables indépendantes : concentration de solvant, la puissance, le temps qui sont désignés par x1, x2 et x3, respectivement. Ces variables et les 3 niveaux sont affichés dans le tableau II. La valeur codée 0 représente le point central des variables et a été répétée pour une erreur expérimentale. Les points factoriels ont été codés comme ±1.

Tableau II: Variables indépendantes et les niveaux des facteurs influençant sur l'extraction assistée par micro-ondes.

Variables indépendantes	Niveaux des facteurs		
	-1	0	+1
x1 : Ethanol (%)	20	60	100
x2 : Puissance (w)	100	500	900
x3 : Temps (s)	30	120	210

Ces paramètres ont été étudiés de manière à optimiser deux réponses : Le taux des polyphénols totaux, le pouvoir réducteur. Selon la formule: $N = 2k(k-1) + C_p$. Un nombre de 15 essais ont été réalisés de manière à pouvoir estimer le modèle mathématique des réponses investiguées (**Bezerra et al., 2008**).

Où : **N** : est le nombre d'expériences.

k : est le nombre de facteurs.

C_p: est le nombre de points centraux

La méthodologie des surfaces de réponses permet de modéliser les réponses étudiées sous forme d'une équation polynomiale de deuxième degré présenté ci-dessous :

$$y = B_0 + \sum_{i=1}^k B_i x_i + \sum_{i=1}^k B_{ii} x_i^2 + \sum_{i>j}^k B_{ij} x_i x_j$$

Où : **Y** représente la réponse étudiée (dans notre cas, y représente PPT, PR)

B₀ est un coefficient constant;

B_i, **B_{ii}** et **B_{ij}** sont des coefficients des limites linéaires, quadratiques et interactives, respectivement, et le **x_i** et **x_j** représentent les variables indépendantes codées.

I.5. Analyse statistique

Tous les dosages ont été effectués en triple et les résultats sont exprimés en moyenne. L'influence des facteurs sur le rendement en PPT et PR dans l'expérience en été statistiquement évalué par (ANOVA) selon le (Test de LSD). Un logiciel JMP (Version 14) a été utilisé pour construire le plan d'expérience de (BBD) pour l'analyse de tous les résultats. L'étude des corrélations a été réalisée, en utilisant la matrice de corrélation

I.6. Vérification du model

Les conditions optimales pour l'extraction des PPT et de l'PR dépendant de la composition du solvant, de la puissance et du temps d'extraction ont été obtenues à l'aide des équations prédictives de MSR. Les valeurs expérimentales et prédites ont été comparées afin de déterminer la validité du modèle

1.7. Dosage des antioxydants et évaluation de la capacité antioxydante

1.7.1. Dosage des flavonoïdes

Les flavonoïdes comme l'un des groupes les plus divers et répandus des composés naturels, se sont probablement les composés phénoliques naturels les plus importants. Ces composés possèdent un large spectre d'activités chimiques et biologiques, y compris les propriétés anti-radicalaires. La méthode du trichlorure d'aluminium (**Yi et al ., 2007**) est employée pour déterminer la teneur en flavonoïdes totaux dans l'extrait de feuilles de *Laurus nobilis* ces flavonoïdes forment un complexe avec $AlCl_3$, même en présence d'autres composés phénoliques , qui ne peut pas former un complexe avec $AlCl_3$. Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de former avec le groupement (CO) un complexe jaunâtre en présence de chlorure d'Aluminium (**Ribereau-Gayon, 1968**).

1 ml de l'échantillon est ajouté à 1ml de la solution d' $AlCl_3$ (2 % dans le méthanol pure) Après 10 min d'incubation l'absorbance est lue à 430 nm. Une courbe d'étalonnage ($y = ax + b$) établie par la quercitrine (0-40g/ ml) réalisée dans les mêmes conditions opératoires que les échantillons servira à la quantification des flavonoïdes. La teneur en flavonoïdes est exprimée en milligramme d'équivalent de quercitrine, par 100 gramme d'extrait en matière sèche (mg EQ/100gMs).

I.7.2. Dosage des tannins

Le dosage des tanins a été déterminé par la méthode au Butanol-HCL développée par (Iqbal, 2011), basée sur la réaction de dépolymérisation des tanins condensés en milieu acide, cette dépolymérisation conduit à la libération des anthocyanidine qui sont des molécules colorées correspondantes aux monomères clivés.

Une quantité de 200 µl d'extrait a été additionné à 2 ml de solution acide de sulfate de fer (3.8 mg de sulfate d'ammonium ferrique $Fe_2(SO_4)_3$ dissous dans 25 ml de n - butanol-HCL 3 / 2) puis le mélange a été incubé à 95 ° C pendant 15 min. L'absorbance du mélange a été lue à 530 nm. La teneur en tanins a été calculée par la formule suivante et les résultats ont été exprimés en (mg / 100 g Ms): $A = \epsilon \times l \times c$

Ou :

- A : Absorbance à 530 nm
- ϵ : Coefficient d'extinction
- l : Diamètre de la cuve.
- c : Concentration des tanins en mol / l

I.7.3. Activité antiradicalaire DPPH

La méthode du DPPH (diphénylpicryl-hydrayl) est basée sur la réduction d'une solution alcoolique de l'espèce radicalaire stable DPPH en présence d'un antioxydant donneur d'hydrogène (AH) , qui aboutit à la formation d'une forme non - radicalaire , le DPPH - H (diphénylpicryl-hydrazine). La réduction du DPPH + en DPPH-H induit un changement de sa couleur violette en jaune, dont l'intensité de la couleur jaune est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons Ainsi plus la perte de couleur es rapide plus le donneur d'hydrogène est considéré comme un antioxydant fort (Mansouri, Embarek, Kokkalou. & Kefalas, 2005).

Le DPPH est caractérisé par son adaptation à plusieurs échantillons dans une courte durée, il est assez sensible pour détecter les ingrédients actifs à des basses concentrations, à cet effet, il a été employé pour le criblage des activités anti radicalaires des extraits végétaux (Lim *et al.*, 2007).

Un volume de 200 µL d'extrait est ajouté à 1ml de la solution du DPPH préparée fraîchement dans du méthanol . Le mélange est laissé 30 min à l'obscurité. L'absorbance est mesurée à 515 nm contre le blanc (**Brand-williams et al.,1995**) .

% d'activité antioxydante = $[\text{Abs contrôle} - \text{Abs échantillon} / \text{Abs contrôle}] \times 100$

II. Résultats et discussion

L'optimisation de l'extraction des PPT à partir des feuilles de laurier a été étudiée en utilisant la méthodologie de surface de réponse (MSR). Cette dernière permet d'étudier l'influence de chacun des paramètres (solvant, temps, puissance) et d'analyser l'interaction entre ces facteurs. La méthodologie de surfaces de réponse (MSR) est une technique visant à déterminer les variations de la réponse vis-à-vis des facteurs d'influences significatives ; elle s'est révélée être un outil puissant pour déterminer les effets de chaque facteur (variables) et les interactions entre eux, ce qui permet de traiter l'optimisation efficacement (**Goupy et Creighton, 2006; Krishnaiah et al., 2014**).

Le principal avantage de la MSR est que le montant des données nécessaires à l'évaluation, à l'analyse et à l'optimisation réduit considérablement le nombre d'expériences nécessaires. La MSR est une méthode plus rapide et plus économique pour recueillir des résultats de recherche que l'expérience classique à une variable à la fois. La méthode de surface de réponse nécessite trois étapes:

1. la construction du plan expérimental.
2. la modélisation de la réponse.
3. les représentations graphiques.

II.1. Construction du plan d'expérience

L'optimisation de l'extraction des antioxydants des feuilles de laurier par la MSR est étudiée suivant le modèle de Box-Behnken en se basant sur la maximisation des de la teneur en PPT et le PR comme des variables de réponses (variables dépendantes).

Les variables indépendants (x1: concentration, x2: puissance, x3: temps) ont été introduits dans le logiciel JMP (version 14) en utilisant le BBD. Les teneurs en PPT et les valeurs du PR observées et prédites dans les différentes conditions expérimentales à partir des 15 essais sont illustrées dans le tableau III.

Tableau III : facteurs et niveaux pour la MSR, matrice de conception de box-behnken(niveau code et non code), les valeurs expérimentales et prédites des PPT et de PR des feuilles de laurier

				PPT(mg EAG/100g)		PR(mg EAG/100g)	
	<i>x1</i> Solvant (%)	<i>x2</i> Puissance (Watt)	<i>x3</i> Temps(s)	Valeurs observées	Valeurs prédites	Valeurs observées	Valeurs prédites
1	20 (-)	100 (-)	120 (0)	593,89	663,79	262,46	258,18
2	20 (-)	900 (+)	120 (0)	936,4	908,97	406,67	396,34
3	100 (+)	100 (-)	120 (0)	922,69	950,12	452,9	463,23
4	100 (+)	900 (+)	120 (0)	1144,65	1074,75	423,76	428,04
5	60 (0)	100 (-)	30 (-)	1119,33	1030,67	451,78	446,18
6	60 (0)	100 (-)	210 (+)	1134,37	1125,7	498,01	497,56
7	60 (0)	900 (+)	30 (-)	1223,39	1232,06	530,12	530,57
8	60 (0)	900 (+)	210 (+)	1205,45	1294,11	510,52	516,12
9	20 (-)	500 (0)	30 (-)	878,9	897,66	359,61	369,49
10	100 (+)	500 (0)	30 (-)	1076,73	1137,96	471,49	466,76
11	20 (-)	500 (0)	210 (+)	1051,67	990,44	362,12	366,85
12	100 (+)	500 (0)	210 (+)	1221,02	1202,26	516,21	506,33
13	60 (0)	500 (0)	120 (0)	1341,3	1303,97	528,61	506,11
14	60 (0)	500 (0)	120 (0)	1304,5	1303,97	490,25	506,11
15	60 (0)	500 (0)	120 (0)	1266,12	1303,97	499,46	506,11

Les résultats montrent que la teneur en PPT des extraits est comprise entre 593,89 et 1341,3 mg EAG/100 g MS alors que les valeurs du PR oscillent entre 262,46 et 530,12 mg EAG/100 g MS.

Le graphique des valeurs observées en fonction des valeurs prévues (**Figure 7**) montre que les valeurs des modèles concordent avec les réponses mesurées ; toutes les valeurs des PPT et de le PR appartiennent à l'intervalle de confiance.

L'analyse de la Variance (ANOVA) permet de calculer un paramètre statistique très utile qui est le coefficient de détermination (R^2). Ce paramètre statistique est le rapport de la somme

des carrés des réponses calculées (corrigées à la moyenne) par la somme des carrés des réponses mesurées (corrigées à la moyenne). Le coefficient de détermination renseigne sur la modèle. Si cette grandeur se rapproche de 1, le modèle exprime une forte puissance d'explication. Si par contre R^2 se rapproche de 0, le modèle présente une faible capacité d'explication. Les coefficients de détermination de 0,93 et 0,98 pour les modèles des PPT et du PR, respectivement, confirment et indiquent la hautes significativités des deux modèles de réponse. En d'autres termes, les puissances d'explication des modèles des PPT et du PR sont respectivement de 93 et 98% et seulement 7 et 2% des variations des deux modèles n'ont pas été expliqués.

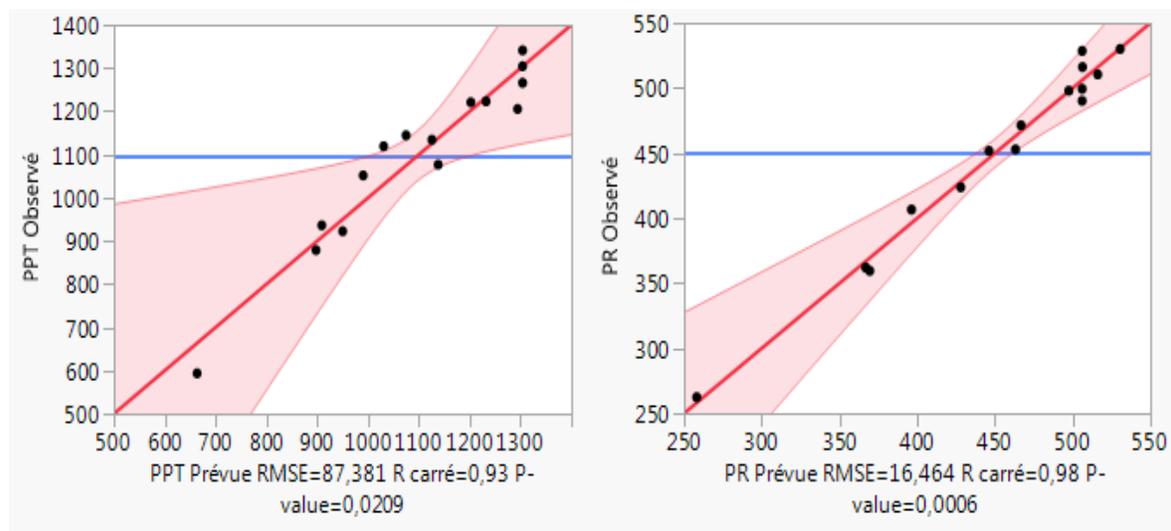


Figure 7: Graphiques des valeurs observées en fonction des valeurs prévues pour les teneurs en PPT et le PR de poudre des feuilles de laurier noble.

II.2. Modélisation de la réponse

L'analyse de la régression des deux modèles (PPT et PR) montre que les modèles sont très significatifs ($p < 0,05$) avec des p values inférieurs à 0,0209 et 0,0006 respectivement pour les PPT et le PR. D'autre part, les p-values du défaut d'ajustement sont 0,1090 et 0,7392 pour les PPT et PR, respectivement (Tableau IV).

Le facteur de détermination (R^2) entre les valeurs réelles et prévues nous renseigne sur la qualité du modèle ; tandis dis que le R^2 ajusté indique le même effet mais avec l'élimination des variables qui n'affectent pas l'extraction. Dans la présente étude le R^2 a été évalué respectivement à 0,93 et 0,98 pour les modèles des PPT et de PR (**Figure 7**), ce qui

explique que 93 % et 98 % des variations des PPT et PR respectivement pourraient être expliqué par le modèle ajusté et seulement 7 et 2% des variations des PPT et PR respectivement ne pourraient pas être expliqué par le modèle ajusté. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajustée est élevée (R^2 ajusté à 0,80 pour PPT et 0,95 pour PR) (**Tableau IV**), ce qui confirme la haute significativité de modèle de réponse.

Le manque d'ajustement (Lack of fit), traduit le fait que le modèle a priori est fort probablement différent du modèle réel, qui régit le phénomène étudié (**Groupy, 2006**). Il définit des points du domaine expérimental qui ne sont pas inclus dans la régression. La valeur F et la Valeur P du manque d'ajustement sont 8,3382 et 0,1090 de PPT, respectivement et la valeur F et la valeur P du manque d'ajustement sont 0,4599 et 0,7392 de PR, respectivement. Ceci explique qu'elles ne sont pas significatives par rapport à l'erreur pure, ainsi que l'équation du modèle était adéquate pour prédire le rendement d'extraction des PPT sous n'importe quelle combinaison de variable.

Tableau IV: Analyse de la variance du modèle et des défauts d'ajustement pour les PPT et du PR des feuilles de laurier

Source	Degrés de liberté	Somme des carrés	Carré moyen	Rapport F	Prob. > F	
PPT						
(mgEAG/100gMS)						
Modèle	9	499694,87	55521,7	7,2715		
Erreur	5	38177,44	7635,5			
Total corrigé	14	537872,31			0,0209*	
Défaut d'ajustement	3	35351,008	11783,7	8,3382		
Erreur pure	2	2826,432	1413,2			
Erreur totale	5	38177,441			0,1090	
R^2	0,929021					
R^2 ajusté	0,80126					
PR (mgEAG/100gMS)						
Modèle	9	79752,120	8861,35	32,6918		
Erreur	5	1355,287	271,06			
Total corrigé	14	81107,408			0,0006*	
Défaut d'ajustement	3	553,2752	184,425	0,4599		
Erreur pure	2	802,0121	401,006			
Erreur totale	5	1355,2873			0,7392	
R^2	0,98329					
R^2 ajusté	0,953213					
*	Valeurs	statistiquement	significatives	(P	<	0,05)

II.2.1. Effet des facteurs

L'analyse de la variance de la régression des coefficients consiste à analyser l'impact des variables (x_1 , x_2 , x_3) à $p < 0,05$, afin de déterminer le degré d'influence des facteurs (concentration du solvant, puissance, temps) sur l'extraction des substances bioactives (**Uma, Ho, & Wan Aida, 2010**). Les p-values sont utilisés comme un moyen pour vérifier la significativité de chaque coefficient, ce qui indique aussi l'intensité d'interaction de chaque paramètre. Les plus petits p-value présentent la plus grande significativité du facteur correspondant (**Liu, Yang, Zhang, & Majetich, 2010 b**). Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau V .

Tableau VI: Estimation des coefficients de régression du model polynomiale de deuxième degré

Paramètres	Estimation	Erreur standard	t ratio	Prob. > t
PPT (mg EAG/100g MS)				
Constante	1303,9733	50,44961	25,85	<,0001*
Concentration(20,100)	113,02875	30,89395	3,66	0,0146*
Puissance(100,900)	92,45125	30,89395	2,99	0,0304*
Temps(30,210)	39,27	30,89395	1,27	0,2596
Concentration*Puissance	-30,1375	43,69064	-0,69	0,5210
Concentration*Temps	-7,12	43,69064	-0,16	0,8769
Puissance*Temps	-8,245	43,69064	-0,19	0,8577
Concentration*Concentration	-259,0604	45,47466	-5,70	0,0023*
Puissance*Puissance	-145,5054	45,47466	-3,20	0,0240*
Temps*Temps	12,167083	45,47466	0,27	0,7997
PR (mg EAG/100g MS)				
Constante	506,10667	9,505393	53,24	<,0001*
Concentration(20,100)	59,1875	5,82084	10,17	0,0002*
Puissance(100,900)	25,74	5,82084	4,42	0,0069*
Temps(30,210)	9,2325	5,82084	1,59	0,1736
Concentration*Puissance	-43,3375	8,231911	-5,26	0,0033*
Concentration*Temps	10,5525	8,231911	1,28	0,2561
Puissance*Temps	-16,4575	8,231911	-2,00	0,1020
Concentration*Concentration	-94,95458	8,568045	-11,08	0,0001*
Puissance*Puissance	-24,70458	8,568045	-2,88	0,0345*
Temps*Temps	16,205417	8,568045	1,89	0,1172

- **Effet linéaire**

Les résultats montrent que les facteurs qui influencent d'une manière hautement significative sur l'extraction des PPT sont la concentration du solvant (x_1) avec une probabilité $p < 0,0146$ et t-ratio ($t = 3,66$), et la puissance (x_2) avec une probabilité $p < 0,0304$ et t-ratio ($t = 2,99$) de PPT, cependant l'impact est non significatif pour le facteur (x_3 : temps).

Les résultats montrent que les facteurs qui influencent d'une manière hautement significative sur le PR sont la concentration du solvant (x_1) avec une probabilité $p < 0,0002$ et t-ratio ($t = 10,17$), suivi par et la puissance (x_2) avec une probabilité $p < 0,0069$ et t-ratio ($t = 4,42$) de PR, cependant l'impact est non significatif pour le facteur (x_3 : temps).

- **Effet quadratique**

Les effets quadratiques x_1^2 (concentration*concentration), x_2^2 (puissance*puissance), influencent d'une manière significative sur la teneur en PPT, avec des probabilités $p < 0,0023$, $< 0,0240$, respectivement ; alors que l'effet quadratique x_3^2 (temps*temps) n'est pas significatif.

Les effets quadratiques x_1^2 (concentration*concentration), x_2^2 (puissance*puissance), influencent d'une manière significative sur le PR, avec des probabilités $p < 0,0001$ et $p < 0,0345$, respectivement ; alors que l'effet quadratique x_3^2 (temps*temps) n'est pas significatif.

- **Effet d'interaction**

Les interactions $x_1 x_2$ (concentration * puissance) et $x_1 x_3$ (concentration * temps) et $x_2 x_3$ (puissance * temps), ne sont pas significatives sur la teneur en PPT.

L'interaction $x_1 x_2$ (concentration*puissance) est significative sur le PR et les interactions $x_1 x_3$ (concentration*temps) et $x_2 x_3$ (puissance*temps), ne sont pas significatives sur le PR.

II.2.2. Modèle mathématique

Lorsque les facteurs sont clairement identifiés et la réponse est connue, un plan d'expérience avec une liste d'expériences à réaliser est proposé afin de cerner au mieux le phénomène étudié. Dans l'absolu, le choix d'un plan d'expérience n'a pas de sens tant qu'il n'est pas subordonné au choix préalable d'un modèle mathématique. Les modèles les plus classiques sont les modèles polynomiaux (le plus souvent de degré inférieur ou égal à deux) (Tinsson, 2010). Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan BBD pour trois facteurs est un modèle de deuxième degré, qui est volontairement simplifié par élimination des effets

d'interactions jugés non significatifs dans l'analyse, ce qui permet de manipuler plus facilement cette expression réduite tout en gardant une qualité d'ajustement quasiment similaire (Tinsson, 2010). Le modèle mathématique opté dans la présente étude est représenté par les deux relations suivantes:

$$y_{PPT} = 1303,9733 + 113,02875 x_1 + 92,45125 x_2 - 259,0604 x_1^2 - 145,5054 x_2^2$$

$$y_{PR} = 506,10667 + 59,1875 x_1 + 25,74 x_2 - 94,95458 x_1^2 - 24,70458 x_2^2 - 43,3375 x_1 x_2$$

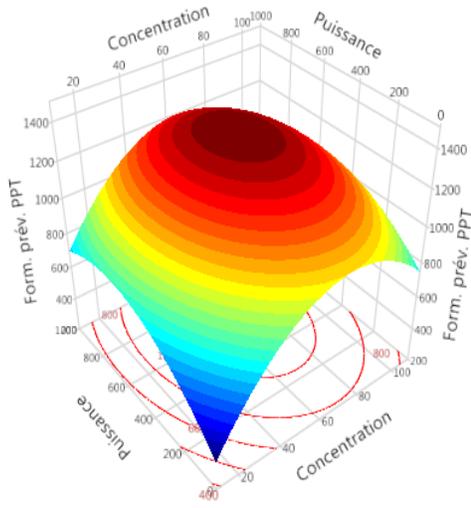
II.3. Analyse de surface de réponse

La surface de réponse 3D est la représentation graphique de l'équation de régression. Elle fournit une méthode pour visualiser la relation entre les réponses et les niveaux expérimentaux de chaque variable et le type d'interactions entre deux variables d'essai (Zhong et Wang, 2010).

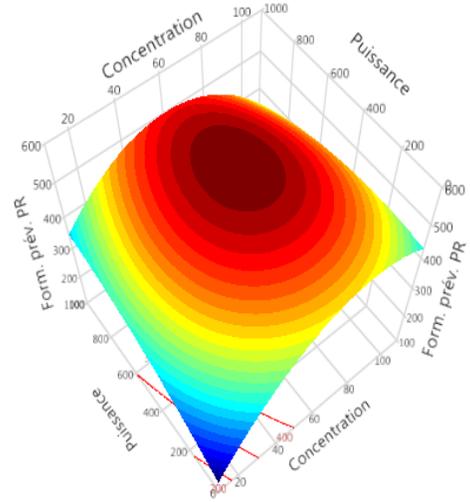
La Figure 9 (a,b) illustre la représentation tridimensionnelle des effets de la concentration du solvant (X_1) et de la puissance d'irradiation (X_2) sur l'extraction de PPT (Figure 9 a) et le PR (Figure 9 b) des feuilles de laurier. On peut observer que le taux d'extraction des PPT augmente avec l'augmentation de la concentration du solvant et de la puissance d'irradiation donc ils exercent un effet significatif sur la teneur en PPT et le PR. L'examen des graphiques de la figure 9 montre l'existence des niveaux de concentration et de puissance optimaux pour la PPT et PR. Ceci est dû à présence de l'effet quadratique de la concentration du solvant et de la puissance d'irradiation comme le confirme les résultats du Tableau VII.

La température s'est avérée améliorer la récupération des composés phénoliques selon (Durling *et al.* (2007) et Silva *et al.* (2007)).

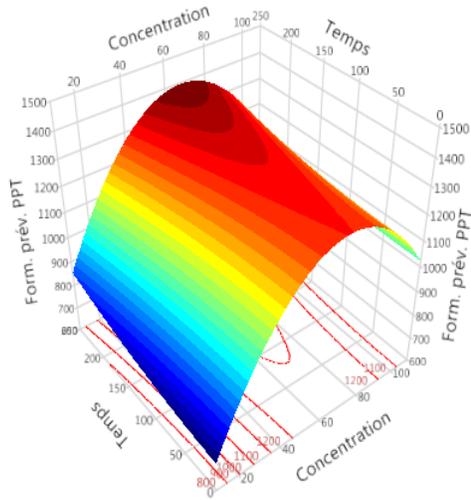
L'ajout d'eau dans le méthanol augmente la polarité des solvants d'extraction, ce qui augmente le rendement en PPT de manière significative (Cheok *et al.*, 2012). Le concept de polarité peut être directement lié aux moments dipôles, aux capacités de liaison hydrogène et à la polarité (Anslyn et Dougherty, 2006).



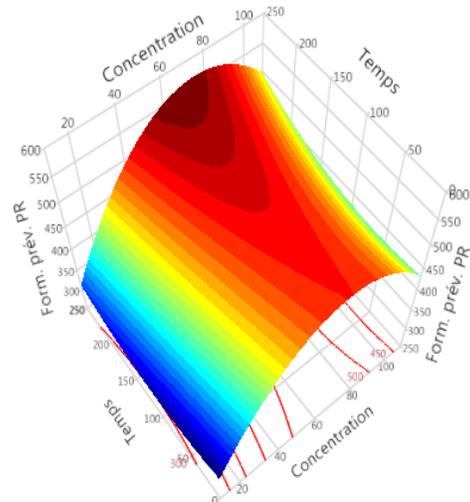
a



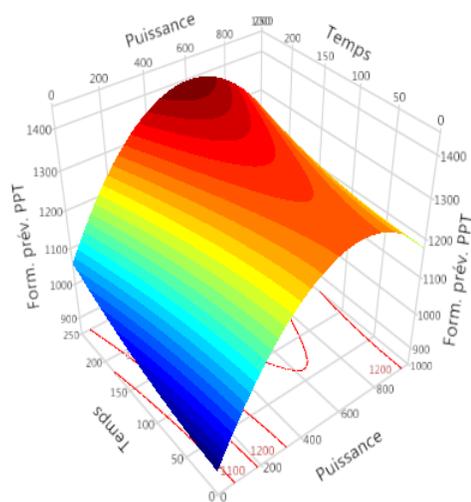
b



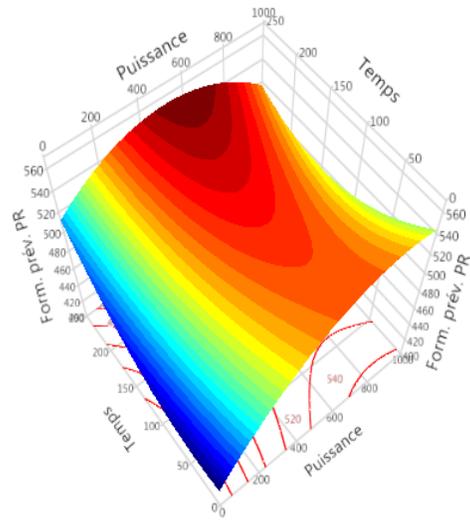
c



d



e



f

- a : les effets de la concentration du solvant (X1) et de la puissance d'irradiation (X2) sur l'extraction de PPT .
- b : les effets de la concentration du solvant (X1) et de la puissance d'irradiation (X2) sur l'extraction du PR.
- c : les effets de la concentration du solvant (X1) et du temps d'irradiation (X3) sur l'extraction du PPT.
- d : les effets de la concentration du solvant (X1) et du temps d'irradiation (X3) sur l'extraction du PR.
- e : les effet de la puissance (X2) de micro-onde et du temps d'irradiation (X3) sur l'extraction du PPT.
- f : les effet de la puissance (X2) de micro-onde et du temps d'irradiation (X3) sur l'extraction du PR.

Figure 8: Graphiques de surface de réponse montrant l'effet de concentration et la puissance et le temps sur les PPT et le PR des feuilles de *Laurus nobilis*

Les solvants capables d'être des donneurs de liaisons hydrogène et/ou des accepteurs sont très bons pour solubiliser les solutés qui peuvent également former des liaisons hydrogène. En outre, l'augmentation de la concentration du méthanol favorise la dégradation des membranes cellulaires qui améliore la perméabilité du solvant dans la matrice solide (Vatai *et al.*, 2009) . Néanmoins, à une très forte concentration en méthanol, la polarité résultante est inappropriée pour l'extraction d'antioxydants.

Des résultats similaires ont été obtenus lorsque les phénols totaux des feuilles de patate douce (TPSL) ont été extraits par EAM. Les auteurs ont signalé que la concentration d'éthanol dans l'eau avait une grande influence sur l'extraction de TPSL, entraînant des augmentations du rendement de TPSL avec des augmentations de 40 % à 60 % (v/v) de concentration d'éthanol. En revanche, une concentration d'éthanol entre 70 % et 80 % (v/v) a entraîné une extraction de TPSL plus faible. La présence d'éthanol dans l'eau augmente le taux de transfert de masse et la polarité du solvant d'extraction et améliore par conséquent le rendement d'extraction des composés phénoliques en raison d'une polarité plus étroite entre le solvant d'extraction et les composés phénoliques. De plus, le mélange éthanol : eau est un solvant sûr et respectueux de l'environnement (Muñiz *et al.*, 2018).

Les effets de la concentration du solvant (X1) et du temps d'irradiation (X3) sur l'extraction du PPT et le PR ont été représentés dans la **Figure 8 c et d**, respectivement. D'après ces figures, la concentration du solvant affecte fortement l'extraction des antioxydants, le taux d'extraction des PPT augmente avec l'augmentation de la concentration de solvant et le maximum est atteint entre 60 et 70%, le temps d'irradiation lors d'extraction n'agit pas significativement sur la teneur en PPT car on remarque que cette

dernière ne varie que très peu entre 30 et 210 s. L'examen des graphes de la **figure 8** n'a pas montré l'existence des niveaux optimaux de temps pour le PPT et le PR. Cela est dû à l'absence de l'effet quadratique de temps du d'irradiation comme l'indique le **Tableau VIII**.

Toutefois, l'extraction de longue durée affecte négativement l'antioxydant extraction, qui est probablement due à la décomposition de la composés actifs pendant l'extraction prolongée temps (**Bachir Bey et al., 2014**).

Les travaux de **Dent et al. (2013)** sur l'effet des conditions d'extractions sur la teneur en polyphénols de la sauge sauvage prouvent que le temps d'exposition n'influence pas significativement sur le taux de composés phénoliques.

La figure 8 e et f est un graphique de la surface de réponse montrant l'effet de la puissance (X_2) de micro-onde et du temps d'irradiation (X_3) sur le rendement en PPT et PR respectivement. Le rendement de l'extraction a augmenté jusqu'à environ 500-600 W, donc la puissance est agit significativement. L'examen des graphes de la **figure 8** a montré l'existence des niveaux optimaux de puissance. Cela est dû à la présence de l'effet quadratique du puissance comme l'indique le **Tableau V**.

Selon la littérature, l'extraction des composés phénoliques a des températures élevées (valeur supérieure 80 °C) affecte la stabilité des composés en raison de la dégradation chimique et enzymatique et/ou des pertes par décomposition thermique (**Moure et al., 2001; Kiassos et al., 2009**).

II.4. Validation de modèle

Les conditions optimales de l'extraction des PPT et la détermination de PR ont été fournies par l'équation de régression de la méthodologie de surface de réponse et fourni par le logiciel JMP sont représenté dans la **Figure 9**.

Les résultats des conditions optimales pour obtenir la plus grande teneur en PPT ainsi d'un PR maximale, sont 68 % pour la concentration du éthanol, 500 w pour la puissance, et 210 s pour le temps d'irradiation. Dans ces conditions optimales, les valeurs expérimentales étaient de 1371,369 et 494,550 mg Eq AG / 100 g Ms pour les PPT et le PR, respectivement. Ces résultats expérimentaux étaient proche avec les

valeurs prédites pour le PPT et le PR (1366,313 et 541,772 mg Eq AG / 100 g Ms, respectivement). Cette étude montre que le modèle utilisé peut décrire correctement le phénomène étudié car la valeur expérimentale est proche de la valeur prédite.

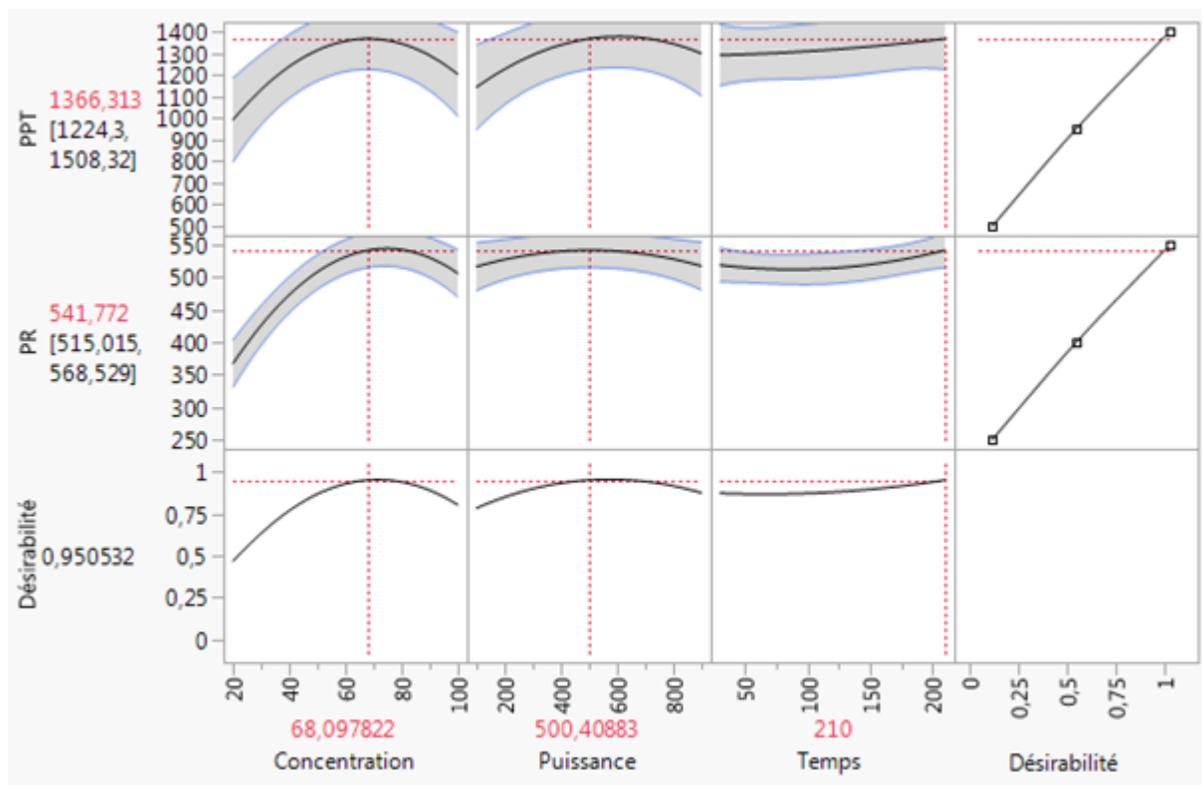


FIGURE 9 : valeurs des parametres optimaux de l'extraction des ppt et le pr

II.5. Antioxydants et l'évaluation de la capacité antioxydante

II.5.1. Polyphénols totaux

La teneur en PPT des feuilles de *laurus nobilis* obtenue dans cette étude (1371,369 mg EAG/100 g Ms) est supérieur à celles obtenues par **Muñiz- Márquez *et al.*, (2018)** et **Belkhir *et al.*, (2019)** (1063 et 8825 mg EAG/100 g Ms, respectivement). Cependant, la teneur en PPT obtenu est inférieur à celle rapportée par **Dobroslavić *et al.*, (2021)** et **Rincon *et al.*, (2019)** (5357 et 2156 mg EAG/100 g Ms, respectivement).

II.5.2. Flavonoïdes totaux

Les résultats obtenus ont montré que la teneur en flavonoïdes dans l'extrait est (148.29 mg EQ /100 g Ms), cette résultats est inférieur à celle obtenue par **Belkhir *et al.*, 2019** (54,50

g EC/ kg de Ps) . Selon les études menées par **Zhishen et al. (1999)** la teneur en flavonoïdes de feuilles de mûre est entre 11.7 et 26.6 mg/g. La comparaison entre les deux plantes a démontré que le laurier n'est pas riche en flavonoïdes.

Les résultats du dosage montrent que la proportion en polyphénols est nettement supérieure à celle des flavonoides, ceci suggère que les polyphénols présents ne sont pas tous des flavonoides , il peut y avoir présence d'autres polyphénols tels que les tanins catéchiques ainsi que les coumarines (**Al-Khateeb et al ., 2012**) . Ces rapports permettent de conclure que la variation des flavonoides n'est pas relative à celles des polyphénols, cela peut être expliqué par la prépondérance des polyphénols non flavonoides.

Des études récentes ont montré que plusieurs facteurs peuvent influencer sur la teneur en composés phénoliques, et flavonoides tels que la méthode d'extraction, facteurs géographiques, climatiques, génétiques, ainsi que le degré de maturation de la plante et la durée de stockage (**Aktumsek et al., 2013**).

II.5.3. Tannins condensés

Les résultats ont montré que la teneur en tannins dans l'extrait des feuilles de *laurus nobilis* est 1138,251 mg / 100 g, elle est supérieur à celle obtenue par **Guerdouh (2017)** (4,52 EAG/ml extrait).

II.5.4. Évaluation de l'activité antiradicalaire DPPH

Les résultats ont montré que l'activité antiradicalaire DPPH est de 144,93 mg / 100 g Ms et la capacité d'inhibition du radical DPPH₊ par l'extraits de poudre de laurier est de 65 %. Ce résultat est inférieur à celle obtenue par **Muñiz- Márquez et al.,(2018)** (94,72 %) .

Conclusion

La présente étude a été consacrée à l'optimisation de l'extraction des composés phénoliques et la capacité antioxydante de laurier par la Méthodologie de Surface de Réponse.

La MSR a permis d'étudier judicieusement l'influence des facteurs concentration en éthanol, puissance, temps d'extraction sur les rendements de l'extraction des composés phénoliques totaux (PPT) à partir du laurier noble.

L'utilisation d'un plan Box Behnken a permis d'obtenir les conditions optimales suivants: concentration d'éthanol 68,09 %, la puissance 500 w, le temps 210 s.

L'analyse de la variance pour l'effet des facteurs sur les PPT et PR donne des coefficients de détermination (R^2) de 0.93 et 0.98 respectivement. De plus, les valeurs des coefficients de détermination ajusté (R^2 ajustée) sont de l'ordre de 0,80 et 0,95, cette analyse montre que le modèle est très significatif ($P < 0,05$) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif ($P > 0,05$).

La teneur en composé phénolique totaux sous ces conditions était de 1371,369 mg EAG/ 100 g Ms , cette valeur est proche de la valeur prédite par le plan d'expérience qui est de 1366,313 mg EAG / 100 g Ms , ce qui affirme que le modèle est significatif avec un coefficient de corrélation R^2 égale à 0.93 qui certifie sa validité .

Le pouvoir réducteur des extraits optimaux estimé par le test de réduction de chlorure ferrique, sous les conditions optimales précédentes était de 494,550 mg EAG/ 100 g Ms , cette valeurs est proche de la valeur prédite par le plan d'expérience qui est de 541,772 mg EAG / 100 g Ms , ce qui affirme que le modèle est significatif avec un coefficient de corrélation R^2 égale à 0.98 qui certifie sa validité .

Ces derniers résultats montrent que les extraits du laurier noble constituent une bonne source d'antioxydants naturels et peuvent donc être employés comme conservateur pour prévenir l'oxydation des produits alimentaires et cosmétiques ou pour l'enrichissement des matrices alimentaires.

En perspective nous suggérons :

- ⇒ Rechercher la présence de d'autres métabolites secondaires tels que les alcaloïdes.
- ⇒ Etudier d'autres activités biologiques (antibactérienne, anti-inflammatoire, ...ect).

- ⇒ Extraire les principes actifs par d'autres méthodes (ultrasons).
- ⇒ Utiliser des techniques d'analyse avancées (CCM, HPLC, CPG, ...) pour identifier les antioxydants de l'extrait.

Références bibliographique

Aktumsek, A. , Zengin, G. ,Guler, G. O. , Cakmak, Y.S. , & Duran, A. (2013). Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species. *Food and Chemical Toxicology*, 55, 290-296.

Al-Khateeb, E. , Ohan, A. A. & Al-Ani H. (2012). Cytotoxicity studies of *Tamus communis* root and berries HEP – 2 and AMN – 3 carcinoma cell. *Hygei : Journal for drugs and medicines*, 4 (2), 1-5.

Anslyn, E.V., Dougherty, D.A. (2006). *Modern Physical Organic Chemistry*. University Science Books, California, pp. 10–11, 86–87, 104, 370, 389, 392–393.

Aqili khorasani ,M.S. (1992) Collection of drugs. Educational Organization, Tehran. Pp : 624- 630.

Arslan - Alaton , I. , Tureli , G. , Olmez - Hanci , T. (2009). Treatment of azo dye production wastewaters using Photo - Fenton - like advanced oxidation processes : Optimization by response surface methodology . *Journal of photochemistry and Photobiology A : Chemistry* 202 , 142-153 .

Bachir bey,Meziant, L., Benchikh, Y., & Louaileche, H. (2014). Deployment of response surface methodology to optimize recovery of dark fresh fig (*Ficus carica L.*, var. Azenjar) total phenolic compounds and antioxidant activity. *Food Chemistry*, 162, 277-282.

Barla A., Topçu G., Öksüz S., Tümen G., Kingston D.G.I. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpènes from *Laurus nobilis L.*, *Food chemistry* 104 : 1487-1484.

Belkhir C ., Djahnine K. (2019). optimisation des conditions d'extraction des composants phénolique à partir des feuilles de laurier, mémoire science alimentaire,Béjaia, 66 p.

Beloued A. (2005). *Plantes médicinales d'Algérie* . Office des publications universitaires . Alger . 124p.

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

Botineau M , Pelt J. (2015). *Guide des plantes à fruits charnus comestibles et toxiques* . Paris : Ed . Tec & Doc ; 320 p .

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., Berset C. (1995).Use of free radical method to evaluate antioxidant activity, *Lebensm. Wiss. Technol.* 28 : 25-30.

Bruneton J. (1993). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales* . 3ème Ed Tec & Doc . Paris .

Bruneton J. (1999). *Pharmacognosie et phytochimie des plantes médicinales* . 2ème Ed Tec & Doc , Paris .

Camel , V. (2000) . Microwave - assisted solvent extraction of environmental samples. trends in analytical chemistry , 19 (4) .229-248.

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

Chan , C.H. , Yusoff , R. , Ngoh , G.C. , Kung , F.W. (2011). Microwave - assisted extractions of active ingredients from plants . Journal of chromatography . A 1218 , 6213-6225 .

Cheok, C.Y., Chin, N.L., Yusof, Y.A., Talib, R.A., Law, C.L. (2012). Optimization of total phenolic content extracted from Garciniaman gostana Linn. hull using response surface methodology versus artificial neural network. Ind. CropsProd. 40, 247–253.

Dejaegher , B. , Heyden , Y.V. (2011). Experimental designs and their recent advances in set - up , data interpretation , and analytical applications . Journal of pharmaceutical and biomedical analysis 56 , 141-158 .

Demir V. , Guhan T. , Yagcioglu A.K. , Ddegirmencioglu A. (2004). Mathematical modeling and the Determination of some Quality Paramaters of Air - dried Bay leaves . Biosystems Engineering . 88 (3) : 325-335 .

Demo A. , Petrakis C. , Kefalas P. , Bosliou D. (1998).Nutrient antioxidants in some herbs and Mediterranean plans leaves . Food Research international . 31 (5) : 351-354 .

Dent, M., Dragovic-Uzelac, V., Penic, M., Brncic, M., Bosiljkov, T., Levaj, B.(2013). The effect of extraction solvents, temperature and time on the composition and mass fraction of polyphenols in Dalmatian wild sage (*Salvia officinalis* L.) extracts. Food technology and biotechnology 51, 84.

Dobroslavić E.; Elez Garofulić, I.; Zorić, Z.; Pedisić, S.; Dragović-Uzelac, V. (2021).Polyphenolic Characterization and Antioxidant Capacity of *Laurus nobilis* L. Leaf Extracts Obtained by Green and Conventional Extraction Techniques. Processes, 9(10), 1840.

Durling, N.E., Catchpole, O.J., Grey, J.B., Webby, R.F., Mitchell, K.A., Foo, L.Y., Perry, N.B.(2007). Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinalis*) using ethanol–water mixtures. Food chemistry 101, 1417-1424.

Ferhat M. A. , Meklati B. Y. , Smadja J. , Chemat F. (2006).An improved microwave clevenger apparatus fordistillation of essential oils from orange peel .journal of chromatography A,1112(1-2),121.

Ferreira A. , Proença C. , Serralheiro M.L.M. , Araújo M.E.M. (2006).The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal . J. Ethnopharmacology . 108 : 31-37 .

Fiorini C. , David B. , Fourastét I. , Vercauteren J. (1998).Acylated Kaempferol glycosides from *Laurus nobilis* leaves , J. Phtochemistry . 47 (5) : 821-824 .

- Gallawa , J. C. (2007)** . The Complete Microwave Oven Service Handbook Microtech , Florida .
- Geerts P. , Rammeloo J. , Van Cauteren G. (2002)**. Laurus nobilis : le livre du laurier . Gand : Ed . Ludion ; 131 p .
- Golmakani, M. T., & Rezaei, K. (2008)**. Comparison of microwave-assisted hydrodistillation with the traditional hydrodistillation method in the extraction of essential oils from *Thymus vulgaris* L. *Food chemistry*, 109(4), 925-930. .
- Gómez-Coronado D.J.M., Ibañez E., Rupêrez F.J., Barbas C. (2004)**. Tocopherol measurement in edible products of vegetable origin, *Journal chromatography*. 1054: 227-233.
- Goupy, J. (1999)**. Plans d'expériences pour surfaces de réponse.
- Goupy, J., et Creighton, L. (2006)**. Introduction to experimental designs-3rd édition-Book +CDRom : Hachette.
- Groupy, J. (2006)**. Les plans d'expérience. *Revue Modulad*.
- Guerdouh G. (2017)**. Propriétés physico- chimiques et antifongiques des extraits de deux espèces médicinales : Laurier noble (*Laurus nobilis* L) et laurier rose (*Nerium oleander* L) . mémoire science agronomique, Jijel, 96p.
- Iqbal M.N. , Asgeher M. and Bhatti H.N. (2011)** . Lignin degrading enzymes . *Bioresources* , (22) 1273-1287 .
- Iserin P. (2001)**. Encyclopédie des plantes médicinales . 2ème Ed . Larousse . Londres Pp : 143 et 225-2
- Iserin P. (2001)**. Larousse des médicinales : Identification, préparation , soins. Ed .Larousse :10p.225-226.
- Khadhri A., El Mokni R., & Smiti S., (2013)**. Composés phénoliques et activités antioxydantes de deux extraits de chardon à glu : *Atractylis gummifera*. *Revue Social Science National*, 39 : 44-52.
- Kiassos, E., Mylonaki, S., Makris, D.P., Kefalas, P. (2009)**. Implementation of response surface methodology to optimise extraction of onion (*Allium cepa*) solid waste phenolics. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 10, 246-252.
- Kivçak B. , Mert T. (2002)** Preliminary evaluation of cytotoxic properties of *Laurus nobilis* leaf extracts . *Fitoterapia* . 73 : 242-243 .
- Krishnaiah, Y.S.R., Xu, X., Rahman, Z., Yang, Y., Katragadda, U., Lionderger, R., Peeters, J.R., Uhl, K., Khan, M.A. (2014)**. Development of performance matrix for generic product equivalence of acyclovir topical creams. *International Journal of Pharmaceutics* 475, 110-122.
- Larousse . (2001)**. Larousse encyclopédie des plantes médicinales (identification, préparations et soins). 2ème Edition . VUEF. Paris. 335 p.

Lim , Y. Y. , Lim , T. T. , & Tee , J. J. (2007) . Antioxidant properties of several tropical fruits : A comparative study . Food Chemistry , 103 (3) , 1003-1008 . Doi : 10.1016 / j.foodchem.2006.08.038

Liu, B., Peng, J., Zhang, L., Wan, R., Guo, S., Zhou, L.(2010)a. Optimization of preparation for Co₃O₄ by calcination from cobalt oxalate using response surface methodology. Chemical Engineering Research and Design 88, 971-976.

Liu,Q.,Yang,X.,Zhang,L.,& Majetich,G.(2010)b.Optimization of ultrasonic-assisted extraction of chlorogenic acid from Folium eucommiae and evaluation of its antioxidant activity.JMed Plants Res,4(23),2503-2511.

Liyanapathirana, C., Shahidi, F.(2005). Optimization of extraction of phenolic compounds from wheat using response surface methodology. Food Chemistry 93, 47-56.

Mansouri , A. , Embarek , G. , Kokkalou , E. , & Kefalas , P. (2005) . Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (Phoenix dactylifera) . Food Chemistry , 89 (3) , 411-420 .

Moure, A., Cruz, J.M., Franco, D., Dominguez, J.M., Sineiro, J., Dominguez, H., Nunez, M.J., Parajo, J.C.(2001). Natural antioxidants from residual sources. Food Chemistry 72, 145- 171.

Muñiz - Márquez , D.B .; Wong - Paz , J.E .; Contreras - Esquivel , J.C .; Rodríguez - Herrera , R .; Aguilar , C.N.(2018).Bioactive compounds from bay leaves (Laurus nobilis) extracted by microwave technology . Z. für Nat . C 2018 , 73 , 401-407 . <https://doi.org/10.1515/znc - 0009> .

Muñiz-Márquez, D.B., Martínez-Ávila, G.C., Wong-Paz, J.E., Belmares-Cerda, R., Rodríguez-Herrera, R., Aguilar, C.N.(2013). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Laurus nobilis L. and their antioxidant activity. Ultrasonics sonochemistry 20, 1149-1154.

Myose M. , Paris R.(1976). Précis des matières médicales . Ed Masson . 161-162p .

Pan P , Me C , Wang M , Ji V , Wang K , Liu P. (2010).antioxidant activity of microwave assisted extract of Budellia officinalis and its major active compounds . Food chem . 121 , 497-502 .

Pariente L. (2001).Dictionnaire des sciences pharmaceutique et biologique , 2ème Ed . Académie nationale de pharmacie . Paris 1643 p .

Quezel P. et Santa , S.(1963). La nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales , Tome II . Ed CNRS . Paris . 360-361 p .

Quezel P. et Santa S. (1962). Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales , Tome I. Ed CNRS . Paris . 565p .

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

Ribereau-Gayon,J.,Peynaud,M.,Ribéreau-Gayon,P.and Sudraud,P.(1972). Sciences et techniques de vin.Tome 1, analyse et contrôle des vins.Ed.Dunod, Paris,p 671.

Rincón , E .; Balu , A.M .; Luque , R .; Serrano , L.(2019). Mechanochemical extraction of antioxidant phenolic compounds from Mediterranean and medicinal *Laurus nobilis* : A comparative study with other traditional and green novel techniques . Ind . Crops Prod . 2019 , 141 , 111805. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.111805> .

Sahin , S. et Sumnu , S. G. (2006) . " Physical Properties of foods . " Ed Springer Science , Turkey .

Sayyah M. , Valizadeh J. , Kamalinejad M. (2002).Anticonvulsant activity of the leaf essential oil of *Laurus nobilis* against pentylenetetrazole . Phytomedicine . 9 : 212-21.

Shon M.Y, Kim T.H, Sung N.J., (2003). Antioxidants and free radical scavenging activity of *Phellinus baumii* (*Phellinus* of *Hymenochaetaceae*) extracts. Food Chemistry. 82, 593–597.

Silva, E., Rogez, H., Larondelle, Y.(2007). Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. Separation and Purification Technology 55, 381-387.

Simic M., Kundakoviü T., Kovabeviü N. (2003).Preliminary assay on the antioxidant activity of *Laurus nobilis* extracts. Fitoterapia. 74: 613-616.

Singleton V L. , Orthofer R. , Lamuela - Raventós R M.(1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin - Ciocalteu reagent . Methods in Enzymology . Orlando Academic Press : 152-178 .

Stalikas, C. D. (2010). Free radicalsand antioxidant protocols, 5, 65-90.

Stursa J.(2001).Arbres et Arbustes à feuilles persistantes .Grand.Paris . P118-203.

Tinsson, W. (2010). Plans d'expérience: constructions et analyses statistiques (Vol. 67): Springer Science & Business Media.

Uma, D., Ho, C., & Wan Aida, W. (2010). Optimization of extraction parameters of total phenolic compounds from henna (*Lawsonia inermis*) leaves. Sains Malaysiana, 39(1), 119-128.

Vatai, T., Skerget, M., et Knez, Z. (2009). Extraction of phenolic compounds from elder berry and different grape marc varieties using organic solvents and/or supercritical carbon dioxide. Journal of Food Engineering, 90, 246-254.

Wang , L. , Weller , C.L.(2006). Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants . Trends in Food Science & Technology 17 , 300-312 .

Witek - Krowiak , A. , Chojnacka , K. , Podstawczyk , D. , Dawiec , A. , Pokomeda , K. (2014). Application of response surface methodology and artificial neural network methods in modelling and optimization of biosorption process . *Bioresource technology* 160 , 150-160 .

Yi Z.-B. , Yu Y. , Liang Y.-Z. , Zeng B. (2007). In vitro antioxidant and antimicrobial activities of the extract of *Pericarpium Citri Reticulatae* of a new Citrus cultivar and its main flavonoids , *LWT - Food Science and Technology* . 4 : 1000-1016.

Zhang , H.-F. , Yang , X.-H. , Wang , Y.(2011). Microwave assisted extraction of secondary metabolites from plants : Current status and future directions . *Trends in Food Science & Technology* 22 , 672-688 .

Zhishen , J. , Mengcheng , T. , Jianming , W.(1999). The determination flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals . *Food chemistry* 64 , 555 559.

Zhong.K.,Wang,Q.(2010). Optimisation of ultrasonic extraction of polysaccharides from dried longan pulp using response surface methodology.*carbohydrate Polymers* 80,19-25.

Annexes

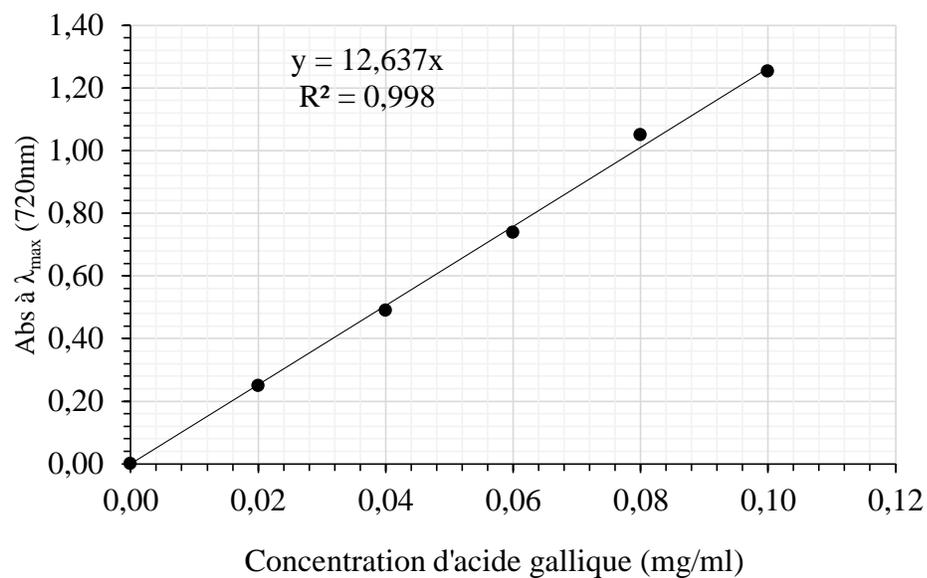


Figure 1 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

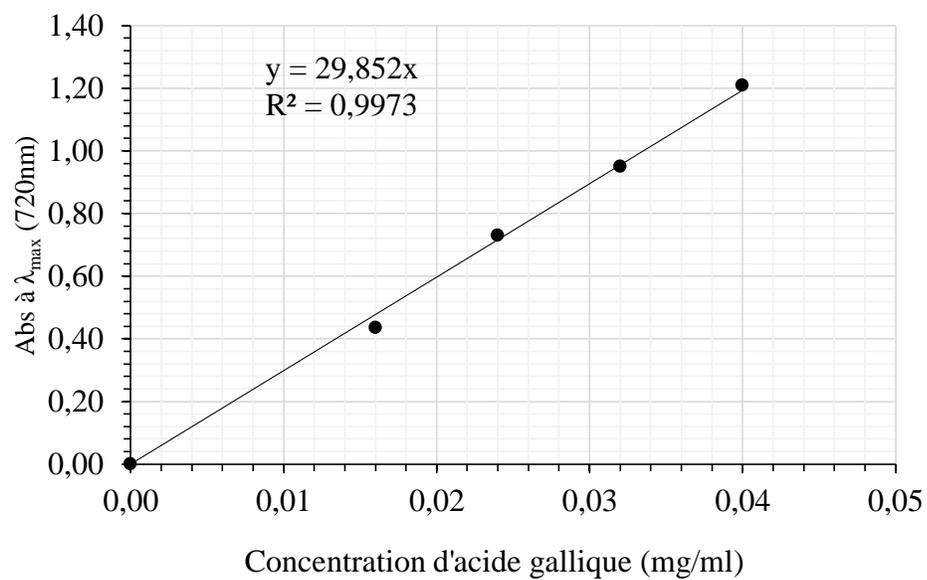


Figure 2 : Courbe d'étalonnage du pouvoir réducteur

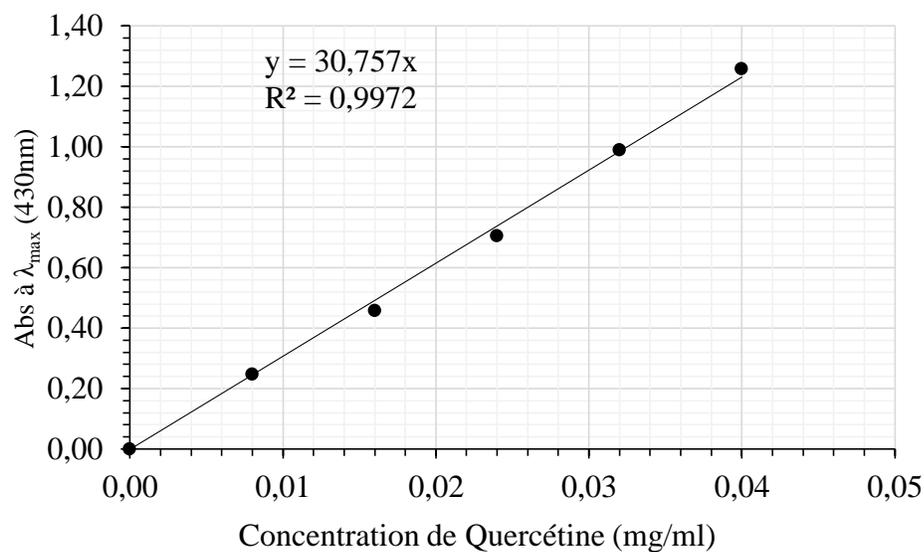


Figure 3 : Courbe d'étalonnage des flavonoïdes

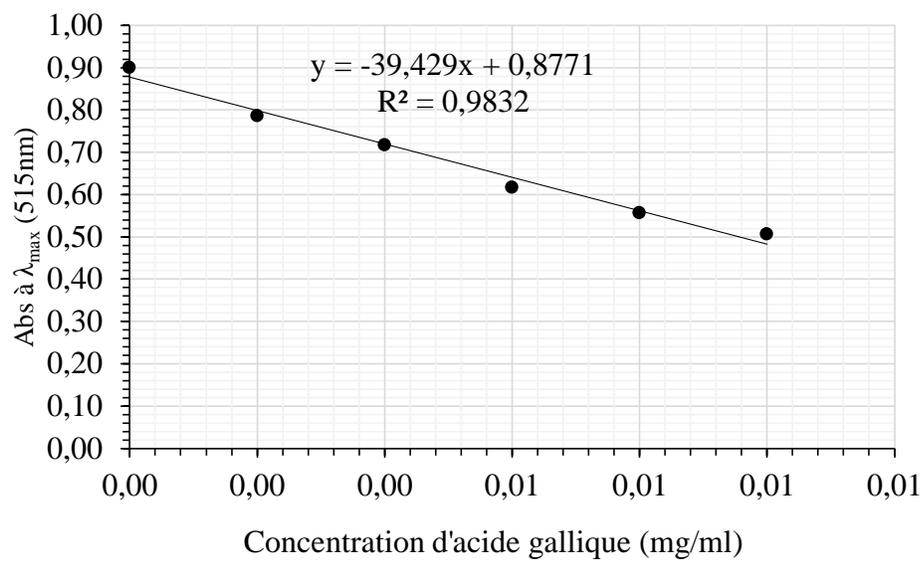


Figure 4 : Courbe d'étalonnage de DPPH

Résumé : Cette étude a été menée dans le but d'optimiser l'extraction des composants phénoliques à partir des feuilles de laurier. L'effet des trois variables indépendantes, puissance de micro-ondes, le temps d'irradiation et le solvant sur le teneur des composants phénoliques totaux et l'activité antioxydants a été évalué en utilisant la méthodologie de la surface de réponse (MSR). Les résultats indiquent que les conditions optimales permettent d'obtenir un meilleur rendement se fait avec mélange d'éthanol /eau 68% pendant 210 s à puissance 500 w. Les valeurs expérimentales sont proches des valeurs prévues ce qui confirme la validité du modèle mathématique.

Les mots clés : optimiser, extraction, composants phénoliques, micro-ondes, méthodologie de surface de réponse.

Abstract: This study was conducted with the aim of optimizing the extraction of phenolic components from laurel leaves. The effect of the three independent variables, microwave power, irradiation time and solvent on the content of total phenolic components and antioxidant activity was evaluated using the response surface methodology (RSM). The results indicate that the optimum conditions allow to obtain a better yield is done with ethanol/water mixture 68% for 210 s at power 500 w. The experimental values are close to the expected values which confirms the validity of the mathematical model.

Keywords : optimize, extraction, phenolic components, microwaves, response surface methodology.

ملخص : أجريت هذه الدراسة بهدف تحسين استخراج المكونات الفينولية من أوراق الغار. وجرى تقييم تأثير المتغيرات الثلاثة المستقلة، وهي طاقة الموجات الدقيقة، ووقت التشعيع والمذيب على محتوى المكونات الفينولية الكلية و النشاط المضاد للأكسدة باستخدام منهجية سطح الاستجابة. تشير النتائج إلى أن الظروف المثلى التي تسمح بالحصول على عائد أفضل يتم باستخدام مزيج الإيثانول/الماء بنسبة 68 % مقابل 210 ث ان عند القوة 500 واط. القيم التجريبية قريبة من القيم المتوقعة. التي تؤكد صحة النموذج الرياضي.

الكلمات الرئيسية : تحسين، استخراج، مكونات فينولية، ميكروويف، منهجية سطح الاستجابة.