

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 بوعريريج

Université de Mohamed El-Bachir El-Ibrahimi - Bordj Bou Arreridj

Faculté des Sciences et de la Technologie

Département Génie de l'environnement.

MÉMOIRE

Présenté pour l'obtention du **diplôme** de **MASTER**

En : génie de l'environnement

Spécialité : génie de procédé

Présenté Par : - DERRADJ Hadjer

Thème

Nouvelles approches d'extraction des substances actives à partir des plantes

Médicinales

Soutenu publiquement, le 23/ 06/ 2026 , devant le jury composé de :

M/AYACHE Riad

Professeur

Univ-BBA

Président

M/Mme TABTI Lilia

MCA

Univ-BBA

Examineur

M/MESSIS Abd el aziz

Professeur

Univ-BBA

Encadrant

Année Universitaire 2025/2026

Remerciements

Tout d'abord, je remercie Dieu Tout-Puissant de m'avoir donné la santé, la volonté et la patience nécessaires pour mener à terme ma formation et réaliser ce travail de recherche.

Je Lui suis reconnaissante pour Sa guidance tout au long de mes années d'études, pour Sa miséricorde et pour m'avoir permis d'atteindre cette étape importante.

*J'exprime ma profonde gratitude à mon encadreur, ****M. Messis Abdelaziz****, pour les efforts qu'il a déployés tout au long de l'élaboration de ce travail, ainsi que pour ses encouragements, sa disponibilité et ses précieux conseils.*

*Je tiens également à remercier sincèrement ****Mme Bekri Sarra**** et ****M. Ben Makhoulf Abdel Fettah**** pour leur aide, leur disponibilité et le temps qu'ils m'ont consacré. Merci pour vos conseils, votre gentillesse et votre patience.*

J'adresse également mes remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'examiner et d'évaluer ce travail de recherche.

*Enfin, je remercie chaleureusement ****M. Fouad Mihoub**** pour avoir partagé ses connaissances avec moi, ainsi que pour son aide et son soutien tout au long de ce travail.*

À toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce mémoire, j'adresse mes sincères remerciements.

الحمد لله وكفى، والصلاة والسلام على الحبيب المصطفى، الحمد لله الذي يسر لي الدرب، وسهل لي الصعب، وأنار بالعلم القلب، حمداً كثيراً
مباركاً وبعد

لكل بداية نهاية و جميل ان يضع الانسان هدفا في الحياة و الاجمل ان يثمر هذا الهدف , الحمد الذي ما انتهى درب ولا ختم جهد و
لا تم سعي الا بفضلله

أهدي هذا النجاح وثمره الجهد والتعب والكفاح،

إلى أمي الحبيبة وإلى أمي الجريحة وقلبها النازف (غزة الشرف والعزة)، سائلاً الله عز وجل أن يرفع عنها البلاء، ويرد كيد الأعداء، ويحقق
فيها الدماء، وينصرها نصر الأعزة الشرفاء، متمنياً أن ينشأ جيل متسلح بالعلم والوعي والإيمان، ليحمل اللواء، ويحرر الأوطان، ويستعيد
الأمجاد، ويدحر الأعداء

. الى لمن هم كل ما املك , الى العمود الثابت في عثرات ايامي ,الى من هم في الحياة حياة ,الى من بذلوا جهد السنين من اجلي ابي و امي
كما اهديه الى اخوتي الى من وقفوا بجانبني في السراء و الضراء و لكل روح عانقتني بالحب و الدعوات .شكرا لكل من كان في طريقي ,
. استندت عليه او مر كعابرا ,شكرا

... و حتى لمن اذاني و حارمني فلولا الحجارة و لولا الجراح لما ايقضوا عزمي

. الطالبة .دراج هاجر .



Résumé

Ce travail porte sur l'extraction des composés bioactifs de *Rosmarinus officinalis* en utilisant des techniques respectueuses de l'environnement. Les plantes médicinales constituent une source importante de molécules naturelles telles que les polyphénols et les huiles essentielles, largement utilisées dans les industries pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques. Cependant, les méthodes d'extraction conventionnelles présentent plusieurs limites, notamment une longue durée d'extraction et l'utilisation de solvants toxiques. Dans cette étude, des techniques d'extraction verte telles que l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) et par ultrasons (UAE) ont été étudiées. Les résultats obtenus ont montré une amélioration de l'efficacité d'extraction et une réduction du temps de traitement. Ces résultats confirment le potentiel des techniques vertes comme alternatives durables pour la valorisation des plantes médicinales.

Mots clés: Green extraction, *Rosmarinus officinalis*, Bioactives compound.

Abstract

This study focuses on the extraction of bioactive compounds from *Rosmarinus officinalis* using environmentally friendly techniques. Medicinal plants are an important source of natural molecules such as polyphenols and essential oils, widely used in pharmaceutical, food, and cosmetic industries. However, conventional extraction methods present several limitations, including long extraction times and the use of toxic solvents. In this work, green extraction methods such as microwave-assisted extraction (MAE) and ultrasound-assisted extraction (UAE) were investigated. The obtained results showed an improvement in extraction efficiency and a reduction in processing time. These findings highlight the potential of green extraction techniques as sustainable alternatives for the valorization of medicinal plants.

Keywords: Extraction, Bioactive compounds, *Rosmarinus officinalis*.

ملخص

يركز هذا العمل على استخلاص المركبات النشطة بيولوجيا من نبات اكليل الجبل *Rosmarinus officinalis* باستعمال تقنيات استخلاص صديقة للبيئة. يُعد هذا النبات مصدرا غنياً بالبوليفينولات والزيوت العطرية ذات الأهمية في المجالات الصيدلانية والغذائية والتجميلية. تهدف الدراسة إلى مقارنة طرق الاستخلاص الحديثة، والاستخلاص بالموجات فوق الصوتية، والاستخلاص بالموجات الدقيقة مع الطرق التقليدية.

كلمات مفتاحية: استخلاص، مركبات بيولوجية، نبات اكليل الجبل .

Liste d'abréviation

Abréviation	Signification
DPPH	2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyle
IC₅₀	Concentration inhibitrice 50 %
TPC	Total Phénolique Content (Teneur totale en polyphénols)
TFC	Total Flavonoïde Content (Teneur totale en flavonoïdes)
QE	Équivalent de Quercétine
UV	Ultraviolet
DO	Densité Optique
UAE	Ultrasound-Assisted Extraction (Extraction assistée par ultrasons)
MAE	Microwave-Assisted Extraction (Extraction assistée par micro-ondes)
CO₂-SFE	Extraction par fluide supercritique au CO ₂
ROS	Réactive Oxygène Species (Espèces Réactives de l'Oxygène)

• Figure 1 : Pexels, photo de romarin, consulté le (3 mai 2026)	9
• Figure 2 : Localisation de la wilaya de Bordj bou Arreridj.....	20
• Figure 3 : Séchage du romarin	21
• Figure 4 : Broyage du romarin.....	21
• Figure 5 : Macération.....	21
• Figure 6 : Étapes de l'extraction par ultrasons	21
• Figure 7 : Filtration de l'extrait.....	23
• Figure 8 : Les expériences de plan d'expérience	29
• Figure 9 : Courbe d'étalonnage de polyphénols totale.....	32
• Figure 10 : Courbe d'étalonnage de flavonoïdes totale	34
• Figure III-1 : Effet des facteurs principaux et leurs interactions.....	42
• Figure III-2 : Dépendance de la réponse prédite en fonction de la réponse réelle	43
• Figure III-3 : Diagramme de dispersion des résidus	43
• Figure III-4 : Diagramme de Pareto des effets normalisés.....	45
• Figure III-5 : Surfaces de réponse	47
• Figure III-6 : Optimisation du rendement	49
• Figure III-7 : Diagrammes de surfaces pour le rendement.....	48

Liste des tableaux

• Tableau 1 : Rendements d'extraction des différentes méthodes.....	33
• Tableau 2 : Résultats du test DPPH.....	36
• Tableau III-1 : Facteurs choisis pour le plan d'expériences	40
• Tableau III-2 : Essais et réponses du plan Box-Behnken.....	40
• Tableau III-3 : ANOVA pour validation du modèle	44
• Tableau III-4 : Signification des coefficients	45
• Tableau III-5 : Paramètres d'optimisation.....	49

Sommaire

Remerciements.....	I
Dédicace	II
Résumé.....	III
Liste des abréviations	IV
Liste des figures	V
Liste des tableaux.....	VI
Sommaire	VII
Introduction générale	1
Chapitre I : État de l'Art.....	3
I.1. Plantes médicinales.....	4
1.1. Définition des plantes médicinales.....	4
1.2. Usages des plantes médicinales	5
I.2. Substances bioactives	6
2.1. Définition.....	6
2.2. Classification	7
2.3. Propriétés biologiques.....	8
I.3. Plante étudiée : <i>Rosmarinus officinalis</i>	9
3.1. Historique du romarin.....	9
3.2. Description botanique.....	10
3.3. Utilisation du romarin	11
I.4. Méthodes d'extraction	12
4.1. Méthodes conventionnelles	12
4.1.1. Extraction par macération.....	12

4.1.2. Extraction Soxhlet.....	14
I.5. Méthodes nouvelles.....	15
5.1. Extraction assistée par ultrasons.....	15
5.2. Extraction assistée par micro-ondes.....	17
Chapitre II : Partie expérimentale	19
II.1. Matériels et méthodes	19
II.1. Matériel végétal.....	19
II.1.1. Présentation de la zone de récolte.....	19
II.1.2. Séchage de la matière végétale.....	20
II.1.3. Broyage.....	20
II.2. Méthodes d'extraction	21
II.2.1. Macération	21
II.2.2. Extraction assistée par ultrasons	21
II.2.3. Extraction assistée par micro-ondes	24
II.3. Dosage des composés phénoliques	25
II.3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	25
II.3.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	26
II.4. Évaluation de l'activité antioxydant (DPPH).....	26
II.4.1. Préparation des solutions.....	27
II.4.2. Protocole expérimental	27
II.4.3. Expression des résultats.....	27
Plan d'expérience.....	29
Résultats et discussion	31
1. Rendement d'extraction.....	31

2. Dosage des polyphénols totaux.....	33
3. Dosage des flavonoïdes totaux.....	34
5. Détermination de l'IC50	37
6. Application du plan d'expériences.....	39
Conclusion générale.....	57
Références bibliographiques.....	58
Annexes	60
Liste des figures	

***Introduction
générale***

Introduction:

Les plantes médicinales jouent un rôle crucial dans les systèmes de santé traditionnels et modernes en raison de leurs propriétés thérapeutiques et de leurs composés actifs. [1]

Au cours des dernières années, l'extraction des composés bioactifs issus des plantes médicinales a suscité un intérêt croissant, en raison de la demande accrue en produits naturels dans divers secteurs tels que l'industrie pharmaceutique, cosmétique, alimentaire et biotechnologique.

Ces substances, notamment les flavonoïdes, les terpènes et les composés phénoliques, sont reconnues pour leurs activités biologiques importantes, telles que les effets antioxydants, antimicrobiens et anti-inflammatoires, ce qui renforce leur valeur dans ces domaines. [2]

Par ailleurs, bien que les méthodes conventionnelles comme la macération et la distillation soient encore largement employées pour extraire certains composés, elles présentent plusieurs limites.

Dans un contexte mondial marqué par la transition écologique et la recherche de la performance thérapeutique, l'extraction des composés bioactive se retrouve face à un défi majeur : Comment maximiser l'efficacité de l'extraction des principes actifs tout en minimisant l'empreinte environnementale du procédé et quelle est les méthodes alternatives.

En revanche, les techniques modernes, telles que l'extraction assistée par ultrasons ou l'utilisation du CO₂ supercritique, offrent des performances supérieures en termes de rendement, de rapidité et de respect de l'environnement. Ces approches permettent notamment de mieux préserver les molécules sensibles à la chaleur tout en réduisant l'utilisation de solvants nocifs [3]. Ainsi, face aux enjeux actuels d'optimisation et de durabilité, ces méthodes innovantes font l'objet d'un intérêt scientifique grandissant, comme en témoignent de nombreuses études récentes.

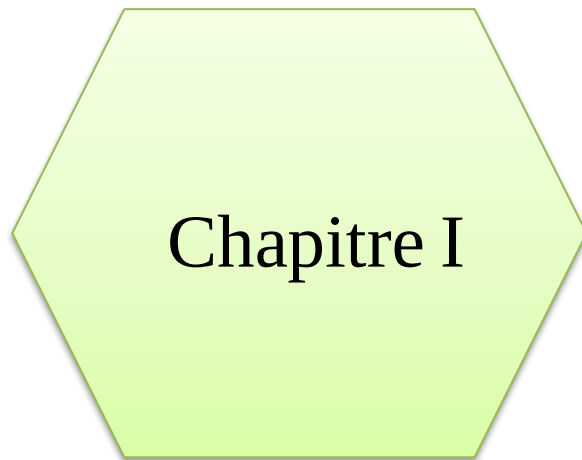
-C'est dans cette optique que s'insère ce travail de thèse de Master et les objectifs visés sont les

Suivants :

L'objectif principal de ce mémoire est une étude comparative, utilisant le concept d'extraction verte appliqué aux plantes, aux aromates et aux médicaments. Ceci permet de comparer les méthodes d'extraction classiques, telles que la macération et la distillation, avec les techniques modernes, notamment l'extraction assistée par ultrasons et l'extraction supercritique au CO₂.

Ce manuscrit de thèse est divisé en deux parties principales :

- Partie bibliographique /Etat de l'Art : cette partie est composée de deux parties, le premier a été consacré pour une généralité sur les plantes médicinales et les substances bioactives et en précisant notre plante ***Rosmarinus officinales L. (Rosemary)*** et le deuxième partie a été consacré sue les méthodes d'extraction conventionnelles et sont limites et les nouvelles méthodes.
- Partie expérimentale : cette partie est composée de deux parties aussi, le premier présente les matériels utilisés et les méthodes qu'on a suivies au cours de cette étude. La deuxième partie regroupe la présentation des différents résultats obtenus au cours des différentes parties d'étude, leurs analyses et leurs interprétations.
- Enfin, nous terminerons par une conclusion générale.



I. Chapitre I

I.1 plantes médicinales

I.1.1 Définition des plantes médicinales :

Les plantes médicinales sont des plantes dont certaines parties sont utilisées à des fins thérapeutiques pour le traitement et la prévention de diverses maladies et affections.

Par ailleurs, le rôle des plantes médicinales dans la recherche ethnobotanique ainsi que dans les initiatives de conservation est incontestable.

Depuis des générations, les communautés autochtones à travers le monde exploitent les vertus thérapeutiques de ces plantes, et leurs savoirs traditionnels ont largement contribué à la découverte et à l'utilisation des composés bioactifs. [4]

I.1.2 L'usage de plantes médicinales :

L'usage des plantes médicinales est une pratique ancestrale et répandue dans de nombreuses cultures à travers le monde. Parmi les parties des plantes médicinales utilisables à des fins médicinales, on trouve les racines, les rhizomes, les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce, etc. Les plantes médicinales (en allemand : Arzneipflanzen) sont obtenues par la récolte de plantes sauvages, semi-cultivées ou cultivées. La culture permet d'obtenir des rendements plus élevés, mais toutes les plantes médicinales ne peuvent pas être cultivées. La busserole, par exemple, en est un exemple. [5]

I.2 les substances bioactives :

Les plantes synthétisent une grande variété de métabolites secondaires tels que les polyphénols, les terpénoïdes, les alcaloïdes et les huiles essentielles. Ces composés Présentent des activités biologiques importantes, notamment des effets antioxydants, antimicrobiens, anti-inflammatoires et anti-âge. [6]

I.2.1 Définition de substances bioactives :

Les composés bioactifs, également appelés métabolites secondaires, sont des substances produites par les plantes qui exercent des effets biologiques sur les organismes vivants. Contrairement aux métabolites primaires nécessaires à la croissance et à la reproduction, les composés bioactifs ne sont pas indispensables à la survie, mais jouent un rôle crucial dans la défense et l'adaptation. [7]

1 .Alcaloïde :

Les alcaloïdes forment un groupe diversifié de composés azotés présents dans de nombreuses plantes médicinales. Ces substances ont souvent des effets physiologiques notables sur l'être humain et font l'objet d'applications thérapeutiques spécifiques.

2 .Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont une classe de composés poly phénoliques reconnus pour leurs propriétés anti-inflammatoires et antioxydants.

On les trouve dans une variété de fruits, de légumes et de plantes médicinales.

Les flavonoïdes jouent un rôle dans la médecine traditionnelle à base de plantes et contribuent souvent à la couleur vive des fruits et des fleurs.

3. Polyphénols :

Les polyphénols forment une catégorie variée de composés présents dans le règne végétal et dotés de propriétés antioxydants, anti-inflammatoires et susceptibles d'avoir des propriétés anticancéreuses. Le polyphénol a attiré une attention particulière en raison de ses propriétés anti-inflammatoires et antioxydants. [8]

Les polyphénols constituent un vaste ensemble de molécules principalement dérivées des plantes. Ces derniers possèdent des caractéristiques antioxydants et freinent le processus de vieillissement cellulaire. On utilise les polyphénols comme moyen de prévention contre les maladies cardiovasculaires, inflammatoires. [9]

4 .Les tanins :

Les tanins jouent un double rôle : ils sont à la fois des antioxydants et des inhibiteurs enzymatiques. Ils préservent les cartilages en empêchant la détérioration de l'acide hyaluronique.

Les tanins ont un caractère astringent et détiennent des propriétés antifongiques et antibactériennes. Ils peuvent également être employés pour réparer les tissus en cas de brûlures et être consommés en situation de diarrhée.

Propriétés biologiques :

1. Tannins :

Les tannins sont reconnus pour leurs multiples activités biologiques, notamment leurs effets antimutagènes, antioxydants et anticancéreux. [10] Leur aptitude à former des complexes avec les protéines et les ions métalliques participe à leur rôle protecteur contre certaines pathologies métaboliques et cardiovasculaires. Par ailleurs, ils présentent un intérêt potentiel dans le contrôle du poids ainsi que des propriétés anti nociceptives. [11]

2. Terpénoïdes :

Les terpénoïdes représentent le groupe le plus vaste de métabolites naturels, issus principalement des voies du mévalonate et du méthylérythritol phosphate (MEP). Ils possèdent une large gamme d'activités biologiques, incluant des effets antimicrobiens, anti tumoraux et cicatrisants. En outre, ils interviennent dans les interactions écologiques des plantes en agissant comme attractants ou répulsifs .Certains composés, tels que l'andrographolide, le β -élémane et le linalol, présentent des activités pharmacologiques importantes, notamment la régulation du cycle cellulaire et l'induction de l'apoptose. [12]

3. Alcaloïdes :

Les alcaloïdes sont des composés azotés caractérisés par une diversité d'effets biologiques, notamment sur les systèmes nerveux, cardiovasculaire et antimicrobien. Ils agissent en modulant différentes voies physiologiques, en influençant l'activité enzymatique et les récepteurs cellulaires. [13] Plusieurs alcaloïdes d'intérêt thérapeutique, tels que la morphine, la quinine et la galantamine, sont largement utilisés en médecine. Leur spectre d'action étendu, allant de l'analgésie à la neuroprotection, leur confère une place essentielle en pharmacologie moderne. [14]

4. Flavonoïdes:

Les flavonoïdes sont des composés poly phénoliques reconnus pour leur puissant pouvoir antioxydant, contribuant à la protection des systèmes cardiovasculaire et hépatique .Ils présentent également des propriétés antivirales notables. Quant aux lignanes, ils se distinguent par leurs activités immunosuppressives, antioxydants et anticancéreuses, ce qui renforce leur intérêt thérapeutique. [15]

I.3: Plante étudiée Romarins officinales



Figure 01: Pexels, photo de romarin, consulté le (3 mai 2026)

I.3.1 Historique de Romarins:

L'histoire romaine est riche en traditions et en symboles. Le mot romarin, issu du latin **ros** (rosée) et **marinus** (marin), signifie « rose de la mer », en référence à son habitat naturel, la Méditerranée. Il est à l'origine de l'appellation « rose du jour » (**Rosa Marina**), désignant une plante marine.

Depuis l'Antiquité, le ***Rosmarinus officinalis*** occupe une place importante dans différentes civilisations. En Égypte, elle est utilisée pour la conservation de certains aliments. Les Grecs et les Romains apprécient ses propriétés médicinales, notamment pour stimuler le système nerveux et faciliter la digestion, lors des rituels de purification. **[16]**.

Au XII^e siècle, les Croisés contribuent à la diffusion du romarin en Europe. En lien avec la civilisation arabe, les techniques de distillation des plantes aromatiques sont alors inexistantes. La substance essentielle du romarin, extrait par distillation, est utilisée pour ses propriétés antiseptiques et anti-infectieuses. En France, on utilise des branches de romaine pour purifier l'air et limiter la propagation des maladies ; on les place dans les abris pour éloigner les insectes. **[17]**

Le *Rosmarinus officinales* est également employé comme plante médicinale polyvalente pour traiter les patients souffrant de rhumatismes, de migraines, de palpitations, ainsi que de certains troubles nerveux. De nombreux principes actifs, outre le camphre (publié en 1685 par Johann Kunckel), sont à l'origine de ces effets thérapeutiques.

Pour les amateurs, cette plante aromatique est largement utilisée en parfumerie, notamment dans l'« Eau de la Reine de Hongrie », un élixir de fraîcheur. En cuisine, la romaine se prête aussi bien à la conservation qu'à la présentation dans les plats. [18]

I.3.2.Description botanique :

Le romarin est un arbuste ligneux, aromatique et vivace appartenant à la famille des Lamiacées, tout comme la menthe. Il se caractérise par un port dressé et peut atteindre une hauteur d'environ 2 mètres.

Ses feuilles persistantes, étroites et allongées, mesurent généralement entre 2 et 4 cm de long et 2 à 5 mm de large. Elles présentent une coloration verte sur la face supérieure, tandis que la face inférieure est blanchâtre, recouverte d'un duvet de poils courts et laineux, ce qui leur confère un aspect caractéristique.

Le romarin présente une grande diversité variétale, se manifestant par des différences au niveau de la taille des feuilles, du port de la plante ainsi que de la couleur des fleurs, qui peuvent être blanches, roses, violettes ou bleues.[19]

Par ailleurs, cette variabilité botanique influence directement les propriétés aromatiques de la plante, ainsi que son rendement en huile essentielle et sa composition chimique. [20]

I.3.3. Utilisation du romarin :

Le romarin peut être utilisé sous différentes formes, notamment à des fins thérapeutiques et culinaires.

3.1. Infusion (tisane) :

Les morceaux de romaine peuvent être utilisés en infusion. Cette tisane favorise la digestion, réduit la fatigue et procure un effet relaxant.

3.2 . Extraits secondes ou liquides :

Le romarin existe sous forme d'extraits secondes, d'extraits liquides ou de liquides. Ces préparations permettent de bénéficier de propriétés biologiques et thérapeutiques plus concentrées.

3.3. Huile essentielle :

L'huile essentielle de romarin s'utilise en massage ou en diffusion atmosphérique. Elle est réputée pour ses effets stimulants, son action contre le stress et son efficacité pour améliorer la concentration. Il est recommandé de l'utiliser avec précaution.

3.4. Inhalation :

L'inhalation des vapeurs, une fois l'odeur du liquide éliminée, peut être utilisée pour soulager les sifflements respiratoires et faciliter la respiration.

Utilisation culinaire :

Le romarin est largement utilisé en cuisine comme plante aromatique. Il comprend différents types de plats tels que des légumes, des pommes de terre, des sauces et des légumes grillés à l'arôme caractéristique. [21]

I.4 Méthodes d'extraction:

L'extraction, dans le domaine pharmaceutique, correspond à un procédé permettant d'isoler les principes actifs d'origine végétale ou animale en adaptant les solvants afin de séparer les substances des matières premières ou des aliments ingérables. Les extraits peuvent être incorporés dans des préparations liquides, semi-solides ou en poudre et sont principalement destinés à des applications orales ou externes.

Certains extraits, tels que les teintures ou les extraits fluides, peuvent être utilisés directement dans la formulation de produits thérapeutiques, ce qui nécessite des étapes supplémentaires de purification ou de traitement. Les techniques d'extraction, notamment la macération, la percolation et l'extraction par solvant, font généralement appel à des solvants organiques et requièrent d'importantes quantités de solvants, proportionnellement à la durée de l'extraction. À l'inverse, des méthodes comme la décoction et l'hydro distillation utilisent l'eau comme solution d'extraction. [22]

I.4.1 Méthodes d'extractions conventionnelles:

1 .Extraction par macération

1.1 Principe :

La macération est une technique d'extraction solide-liquide reposant sur le phénomène de diffusion passive des composés bioactifs présents dans une matrice

Végétale vers un solvant adapté, tel que l'eau ou l'éthanol. Cette méthode est généralement effectuée à température ambiante ou sous une légère élévation de température afin de limiter l'altération des composés thermosensibles. L'efficacité de l'extraction dépend de plusieurs facteurs, notamment la taille des particules de l'échantillon ainsi que la durée de contact entre le solvant et la matière végétale. [23]

1.2. Les avantages :

La macération est une méthode économique et simple à réaliser, n'exigeant aucun matériel spécialisé, ce qui la rend facilement accessible, particulièrement pour les recherches préliminaires.

1.3. Les limites :

Parmi ses désavantages se trouvent la durée prolongée nécessaire pour obtenir des rendements importants et son inefficacité à extraire des composés de faible polarité ou provenant de matrices complexes. L'emploi de grandes quantités de solvants peut également soulever des questions environnementales et financières.

2. Extraction par soxhlet :

2.1. Concept d'extraction Soxhlet :

L'extraction Soxhlet remplace un mécanisme de reflux continu ou un solvant volatil traversant le contenu solide d'une cartouche de manière cyclique. Ce procédé assure une extraction exhaustive des composés pouvant être extraits de la solution sélectionnée. Son fonctionnement repose sur l'état du solvant auquel il est exposé : les composés discrets s'accumulent dans le siphon jusqu'à leur diversification, permettant ainsi la réparation du procédé. Cette technique est particulièrement utile pour l'extraction de composés bioactifs à partir de substances non polarisées telles que les lipides et les terpènes, ce qui augmente la capacité à maintenir une saturation constante lors de l'extraction. [24]

2.2. Les avantages :

La technique Soxhlet est particulièrement adaptée grâce à sa capacité à augmenter la teneur en composés non polaires avec une grande efficacité.

De plus, elle offre un contrôle précis des conditions d'extraction finales. Cette capacité est privilégiée pour accroître les quantités extraites de composés bioactifs par des techniques traditionnelles de traitement. Par exemple, dans un grain de café riche en composés non torréfiés, l'extraction ne permet d'obtenir que de faibles quantités de phénols, de globules et de flavonoïdes, dont les concentrations sont importantes et qui contribuent majoritairement à l'action antioxydant .[25]

2.3. Les limites :

Veillez noter que la méthode respecte les restrictions et la signalisation en vigueur. Elle nécessite l'utilisation de grandes quantités de solvants et un processus d'extraction prolongé, ce qui entraîne une forte consommation d'énergie. Ces développements contribuent à garantir la durabilité environnementale et la rentabilité économique de l'ensemble du secteur. À l'extérieur, une exposition prolongée à la chaleur peut altérer certains composants sensibles. Cela peut limiter l'utilisation dans certaines situations. [26]

I.4.2 Méthodes nouvelles:

1. Extraction assistée par ultrasons :

1.1. Principe :

L'extraction assistée par ultrasons (EAU) repose sur la cavitation acoustique, un son créé par des ultrasons à haute fréquence dans un petit volume de liquide. Ces ultrasons contiennent des microbilles qui implosent avec force, générant des températures et des pressions locales qui élèvent les niveaux d'humidité des membranes cellulaires végétales. Cette méthode favorise la libération de composés bioactifs tels que les polyphénols, les flavonoïdes et les caroténoïdes, et se révèle plus efficace que les techniques d'extraction classiques. De ce fait, ces durées de traitement

permettent de garantir une qualité supérieure du produit extrait. [27]

1.2. Les avantages :

Les taux d'extraction maximaux assistés par ultrasons (EAU) sont rapides et efficaces, permettant ainsi d'ajuster les températures d'extraction avec les techniques conventionnelles. Cette méthode, qui nécessite l'utilisation de solvants, est donc plus respectueuse de l'environnement. L'EAU s'adapte à une plus grande diversité de composés bioactifs et de substrats, car sa capacité fonctionnelle à haute température limite la quantité de composés thermosensibles. Par ailleurs, cette technique « Verticale » est particulièrement adaptée de par son faible impact environnemental et sa conformité aux normes de développement des secteurs agricole et pharmaceutique. [28]

1.3. Les limites:

Malgré ses avantages, l'extraction par ultrasons présente certaines limites, telles que la possible dégradation des composés bioactifs sensibles aux ultrasons ou à la chaleur générée pendant le procédé. De plus, sa mise en œuvre à grande échelle peut s'avérer coûteuse en raison du matériel spécialisé requis.

1.4. Application :

La technique d'extraction par ultrasons permet d'améliorer la teneur en polyphénols des fruits, ainsi que la teneur en caroténoïdes des légumineuses. Les flavonoïdes proviennent de différentes plantes et sont extraits par divers traitements. Cette méthode est également recommandée pour l'extraction d'huiles essentielles et d'antioxydants destinés aux secteurs agricole, cosmétique et pharmaceutique.

2. Extraction assistée par Micro-Ondes :

2.1. Principe :

Extraction assistée par micro-ondes (EAM) repose sur le principe suivant : l'EAM utilise des ondes électromagnétiques à haute fréquence qui interagissent avec les molécules polaires présentes dans le solvant et induisent un choc électrique rapide. Ce choc augmente la pression intracellulaire, empêchant ainsi la rupture des membranes et la libération des composés bioactifs dans le solvant. L'efficacité de cette technique est due à la capacité des microcircuits dans le diffuseur de chaleur uniforme, ce qui facilite l'extraction des substances actives telles que les polyphénols, les flavonoïdes et les caroténoïdes.

2.2. Les avantages :

L'MAE se caractérise par sa rapidité et son faible recours aux solvants, en comparaison avec les méthodes conventionnelles. Cela diminue le temps de traitement tout en favorisant la durabilité environnementale. Le chauffage direct par micro-ondes réduit la perte de composés bioactifs sensibles aux traitements thermiques prolongés, préservant ainsi leur intégrité chimique. Elle offre la possibilité d'obtenir des extraits concentrés en antioxydants, qui sont très prisés pour les utilisations dans le domaine alimentaire et pharmaceutique. [29]

2.3. Les limites :

Au cœur des exploitations, l'extraction par micro-ondes assistée (MAE) présente certaines limitations. Les principaux problèmes résident dans l'investissement initial nécessaire pour un matériau spécifique, disponible pour certaines installations. En extérieur, cette technique pose des problèmes avec les composants non pollinisés, car la voiture interagit avec des micro-ondes dont la qualité varie. Il existe également un risque de décomposition des composants sensibles à la chaleur si les facteurs d'extraction, tels que la température et la durée d'exposition, ne peuvent être corrigés. [30]

***Partie
expérimental***

I. Matériels et méthodes:

Matériel utilisés : voir l'annexe

I.1. Matériel végétal

La plante utilisée dans cette étude est le romarin, la plante a été récoltée en mars 2026 dans la région d'Ouled Aïssa (Rabta), wilaya de Bordj Bou Arreridj.

Présentation de la zone de récolte

a. Position géographique de la wilaya de Bordj Bou Arreridj

La wilaya de Bordj Bou Arreridj se trouve dans les hauts plateaux de l'Est Algérien (Figure), elle s'étend sur une superficie de 3 920,42 Km², limitée :

- Au Nord par-là de Wilaya Bejaia ;
- A l'Ouest par la Wilaya de Bouira ;
- Au Sud par la Wilaya de M'sila ;
- Et à l'Est par la Wilaya de Sétif.

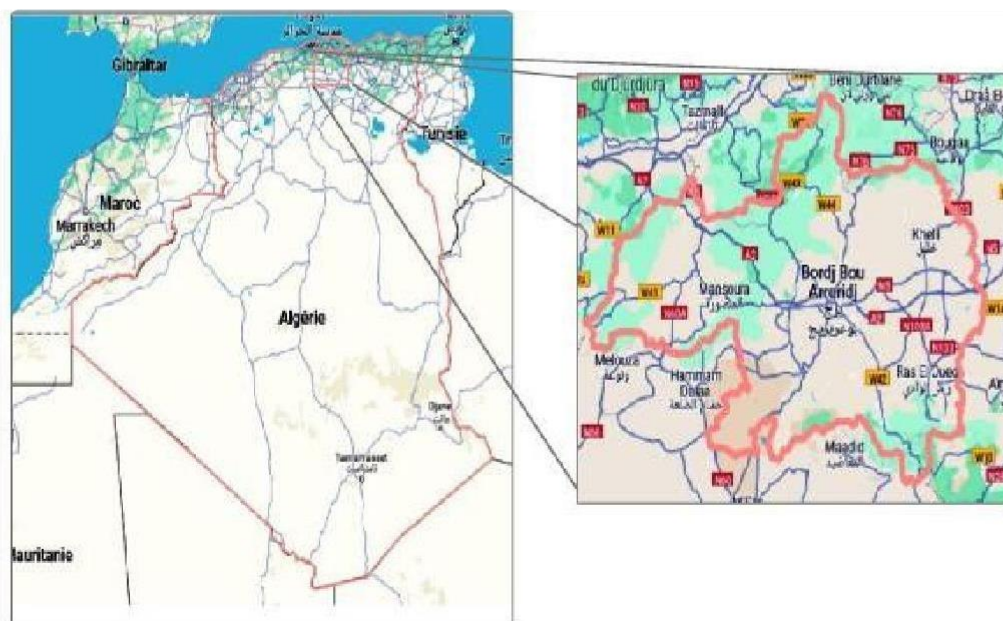


Figure 02 : Localisation de la Wilaya de Bordj Bou Arreridj

b. Climat de la wilaya de Bordj Bou Arreridj

De type continental, le climat de la wilaya de Bordj Bou Arreridj est semi-aride, aux hivers froids et aux étés secs et chauds. Cependant, il existe des contrastes pluviométriques liés à l'altitude entre les différentes régions de la wilaya. C'est au niveau des zones montagneuses que sont enregistrées les plus importantes précipitations (700 à 1 000 mm). Par ailleurs, la pluviométrie est comprise entre 300 et 600 mm.

I.1.2. Séchage de la matière végétale

Les feuilles de romarin ont été séchées (Figure 02) dans des conditions par deux méthodes ; ou il n'y a pas de courant d'air et à l'ombre pendant 7 jours. Ou par étuvage pour préserver les antioxydants thermolabiles à température (40-45 °C) pendant 24 -48 heures.



Figure 03: séchage de romarin

I.1.3. Broyage

Les feuilles de la plante ont été broyées manuellement à l'aide d'un broyeur électrique jusqu'à l'obtention d'une poudre granulométrie (0.5 -1mm), cette dernière a été conservée dans un sac en papier propre, fermé et stockée jusqu'à son utilisation.



Figure 04: broyage de romarin

II. Méthodes d'extraction

II.1. Macération

Une quantité de 10 g de poudre végétale (*Rosmarinus officinales*) a été introduite dans un erlenmeyer contenant 100 ml de solvant (éthanol 70% et eau froide 30%). L'ensemble a été macérer pendant 24 heures. L'extrait récupéré par filtration est soumis à une évaporation à 40°C. Cette opération a été répétée deux fois.

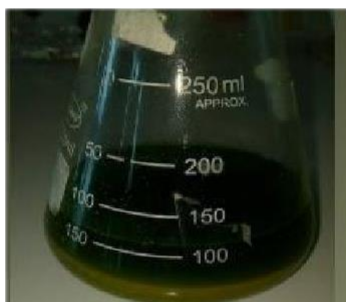


Figure 05 : macération

II.2. Extraction par Ultra son

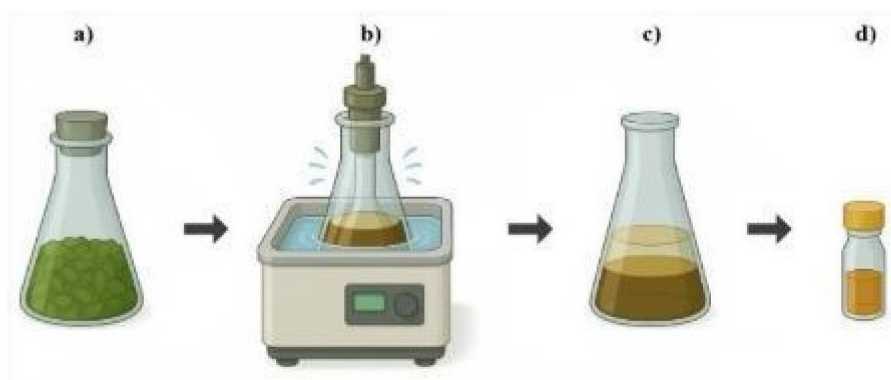


Figure 06 : les étapes de l'extraction par ultra son

II.2.1. Procédure d'extraction assistée par ultrasons

Une masse de 10 g de poudre de romarin a été introduite dans un bécher, puis 100 ml du mélange hydro-alcoolique (70:30, v/v) ont été ajoutés (rapport solide/liquide = 1:10, m/v).

Le mélange a été soumis à une extraction assistée par ultrasons à l'aide d'un bain à ultrasons fonctionnant à une fréquence de 20–40 kHz pendant 30 minutes.

La température a été maintenue en dessous de 50 °C afin d'éviter toute dégradation thermique des composés bioactifs.

Le phénomène de cavitation généré par les ultrasons provoque la formation et l'implosion de microbulles, entraînant la rupture des parois cellulaires et facilitant la libération des métabolites secondaires.

II.2.2. Filtration et récupération

À la fin du traitement ultrasonique, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre afin de séparer l'extrait liquide du résidu solide.



Figure07: Filtration d'extrait

II.2.3. Concentration et conservation

Le solvant a été éliminé à l'aide d'un évaporateur rotatif sous pression réduite à une température inférieure à 45 °C.

L'extrait sec obtenu a été pesé puis conservé dans un flacon ambré à 4 °C jusqu'aux analyses.

II.2.4. Calcul du rendement

Le rendement d'extraction a été déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement(\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sec}}{\text{Masse initiale de plante seche}} \times 100$$

II.3 Extraction par micro-ondes

II.3.1. Procédure d'extraction assistée par micro-ondes

Une masse de 10 g de poudre de romarin a été introduite dans un erlenmeyer en verre résistant à la chaleur, puis 100 ml du mélange hydro-alcoolique (70:30, v/v) ont été ajoutés (rapport solide/liquide = 1:10, m/v).

L'extraction a été réalisée à l'aide d'un four à micro-ondes réglé à une puissance de 400 W pendant 3 minutes, en cycles fractionnés (3×1 minute) afin d'éviter une surchauffe et une dégradation des composés bioactifs.

Après irradiation, le mélange a été laissé à refroidir à température ambiante pendant 5 minutes.

II.3.2. Filtration et récupération de l'extrait

Le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre afin de séparer la phase liquide du résidu solide (marc).

Une extraction successive du marc peut être réalisée dans les mêmes conditions afin d'optimiser le rendement. Les filtrats obtenus sont ensuite combinés.

II.3.3. Concentration de l'extrait

Le solvant a été éliminé sous pression réduite à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température inférieure à 45 °C jusqu'à obtention d'un extrait sec.

L'extrait obtenu a été pesé puis conservé dans un flacon ambré à 4 °C jusqu'aux analyses ultérieures.

II.3.4. Calcul du rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement(\%)} = \frac{\text{Masse de l'extrait sec}}{\text{Masse de la plante sèche initiale}} \times 100$$

II.4. Dosage des composés phénoliques :

Dans cette partie, différents dosages ont été réalisés afin d'évaluer la richesse des extraits en composés bioactifs ainsi que leur activité antioxydant. Le dosage des polyphénols totaux et des flavonoïdes totaux a été effectué par des méthodes spectrophotométriques. L'activité antioxydant des extraits a également été évaluée par le test du radical DPPH.

II.4.1. Dosage des polyphénols totaux :

1. Protocole expérimental :

Pour déterminer la teneur en polyphénols totaux, 200µL de chaque extrait convenablement dilué ont été mélangés avec 1ml du réactif de Folin-Ciocalteu préalablement dilué dix fois avec de l'eau distillée.

Après une incubation de 4 minutes, 800 µL d'une solution de carbonate de sodium à 7,5 % (m/v) ont été ajoutés au mélange réactionnel.

Le mélange a ensuite été incubé pendant 2 heures à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Une courbe d'étalonnage a été réalisée dans les mêmes conditions expérimentales en utilisant différentes concentrations d'acide gallique comme standard.

Les résultats ont été exprimés en microgrammes d'équivalents d'acide gallique par milligramme d'extrait (μg EAG/mg d'extrait)

II.4.2. Dosage des flavonoïdes totaux :

Dosage des flavonoïdes totaux par la méthode au chlorure d'aluminium :

1. Préparation des solutions :

Une solution de chlorure d'aluminium à 2 % a été préparée en dissolvant 2 g d' AlCl_3 dans 100 ml de méthanol. La solution d'extrait a été préparée à une concentration de 1 mg/ml en dissolvant 10 mg d'extrait dans 10 ml de méthanol.

2. Protocole expérimental :

Le dosage des flavonoïdes totaux a été réalisé en mélangeant 1 ml de chaque extrait avec 1 ml de solution de chlorure d'aluminium à 2 %.

Après une incubation de 15 minutes à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 430 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

Le blanc a été préparé en remplaçant la solution de chlorure d'aluminium par 1 ml de méthanol. Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata.

Une courbe d'étalonnage a été établie à l'aide de différentes concentrations de quercétine comme standard. Les résultats ont été exprimés en milligrammes d'équivalent de quercétine par gramme de matière sèche (mg EQ/g MS).

III.1. Évaluation de l'activité antioxydant par le test DPPH

L'activité antioxydant des extraits a été évaluée par le test du radical libre DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle). Cette méthode est basée sur la capacité des composés antioxydants à réduire le radical DPPH de couleur violette en une forme réduite de couleur jaune.

La diminution de l'intensité de la coloration est proportionnelle à la capacité antioxydant de l'extrait étudié. L'absorbance est mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible.

III.1.1. Préparation des solutions :

Une solution de DPPH à 0,1 mM a été préparée dans le méthanol.

Les solutions d'extraits et des standards ont été préparées dans le méthanol à partir d'une solution mère de concentration 1 mg/ml. Des dilutions successives ont ensuite été réalisées selon la relation suivante :

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Une gamme de six concentrations a été établie après la réalisation d'un essai préliminaire à 100 µg/ml.

III.1.2. Protocole expérimental :

Le spectrophotomètre a été préalablement réglé à la longueur d'onde correspondante.

À l'obscurité, 1,5 ml de solution d'extrait ou de standard ont été mélangés avec 0,5 ml de solution de DPPH. Le mélange a été soigneusement agité puis incubé pendant 30 minutes à l'abri de la lumière.

L'absorbance a ensuite été mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV- visible.

Le blanc du test contenait 1,5 ml d'extrait et 0,5 ml de méthanol, tandis que le contrôle contenait 1,5 ml de méthanol et 0,5 ml de solution de DPPH.

Toutes les analyses ont été réalisées en triplicata.

III.1.3. Expression des résultats :

Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition du radical DPPH selon la formule suivante :

$$\% \text{ d'inhibition} = (A_c - A_t) / A_c \times 100$$

Où :

- A_c : absorbance du contrôle,
- A_t : absorbance du test – absorbance du blanc du test.

Plan d'expérience :

Afin d'optimiser les conditions de l'extraction assistée par ultrasons, un plan d'expérience a été réalisé en étudiant l'influence de trois paramètres principaux sur le rendement d'extraction. Les paramètres étudiés sont le temps d'extraction, la température et la concentration exprimée par le rapport masse/volume.



Figure 08 : Les expériences de plan d'expérience

Les expériences ont été réalisées en utilisant trois niveaux pour chaque facteur. Le temps d'extraction a été varié entre 10, 20 et 30 minutes. La température a été fixée à 30, 40 et 50 °C. La concentration a été étudiée en utilisant différentes masses de matière végétale (1 g, 2 g et 3 g) dans un volume constant de 20 ml de solvant.

Un total de 15 expériences a été effectué afin d'évaluer l'effet individuel et combiné des différents paramètres sur le rendement d'extraction. Les essais ont été organisés en blocs de température afin de faciliter le contrôle du bain à ultrasons et d'assurer une meilleure stabilité expérimentale.

Le rendement d'extraction a été calculé selon la formule suivante :

$$R = \frac{(m_e)}{(m_p)} \times 100$$

Avec :

- (m_e) : masse de l'extrait obtenu après évaporation du solvant
- (m_p) : masse initiale de la poudre végétale utilisée

Les résultats obtenus permettront de déterminer les conditions optimales d'extraction donnant le meilleur rendement.

Résultats et discussion

1. Rendement d'extraction

Les rendements d'extraction obtenus à partir des différentes méthodes sont présentés dans le tableau suivant :

Méthode d'extraction	Rendement (%)
----------------------	---------------

Macération	12
------------	----

Ultrasons (UAE)	53
-----------------	----

Micro-ondes (MAE)	42
-------------------	----

La macération a donné un rendement d'extraction de **12 %**, qui représente la valeur la plus faible parmi les méthodes étudiées. Ce faible rendement peut être expliqué par l'absence d'énergie externe capable de favoriser la rupture des parois cellulaires. L'extraction repose essentiellement sur la diffusion passive des composés bioactifs vers le solvant, ce qui nécessite un temps d'extraction plus long et limite la quantité de substances extraites. Malgré sa simplicité, cette méthode reste moins performante pour la récupération des composés d'intérêt.

Par contre l'extraction assistée par ultrasons a présenté le rendement le plus élevé avec une valeur de **53 %**. Cette amélioration est attribuée au phénomène de cavitation acoustique généré par les ultrasons. La formation et l'implosion des microbulles dans le milieu provoquent une désorganisation des tissus végétaux et facilitent la libération des composés bioactifs vers le solvant. Ces résultats montrent que les ultrasons constituent une technique efficace pour augmenter la récupération des substances actives tout en réduisant le temps d'extraction.

L'extraction assistée par micro-ondes a permis d'obtenir un rendement de **42 %**, supérieur à celui de la macération mais inférieur à celui des ultrasons. L'action des micro-ondes provoque un échauffement rapide de l'eau contenue dans les cellules végétales, entraînant une augmentation de la pression interne et une meilleure perméabilisation des membranes cellulaires. Ce mécanisme favorise le transfert des composés bioactifs vers le solvant et améliore ainsi l'efficacité de l'extraction.

Comparaison générale :

La comparaison des rendements obtenus montre que les techniques d'extraction vertes sont nettement plus performantes que la macération conventionnelle. L'ordre d'efficacité observé est : **Ultrasons (53 %) > Micro-ondes (42 %) > Macération (12 %)**. Ces résultats confirment que l'utilisation d'énergies physiques permet d'améliorer l'extraction des substances bioactives d'*Romarin officinalis* et souligne l'intérêt des nouvelles approches d'extraction dans la valorisation des plantes médicinales.

2 .4 .Dosage de Polyphénols totaux :

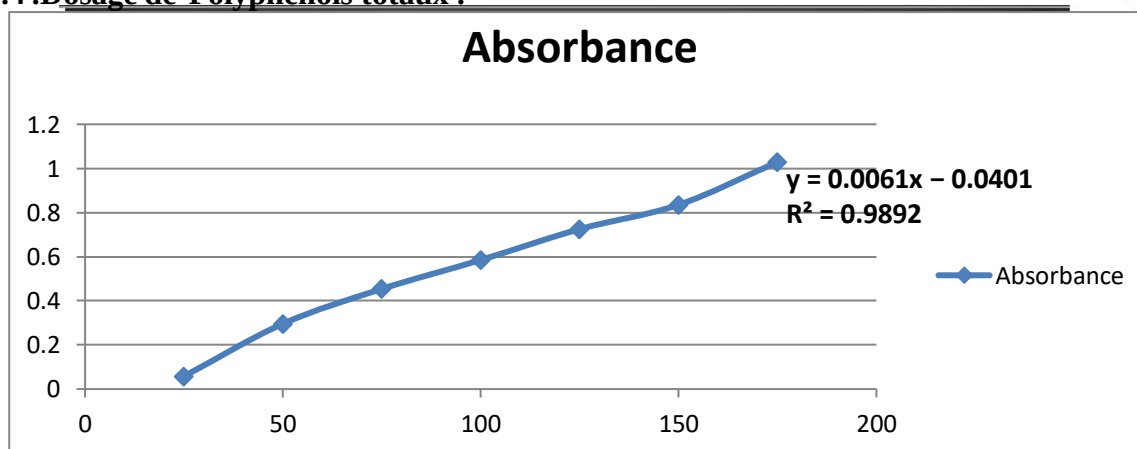


Figure 09 : Courbe d'étalonnage de polyphénols totale

Equation de courbe :

$$y = 0.0061x - 0.040$$

Après correction par le blanc :

- $2.493 - 0.558 = 1.935$

$$2.274 - 0.558 = 1.716$$

- $2.339 - 0.558 = 1.781$

Concentration calculée :

- $C_1 = 323.8 \mu\text{g/ml}$
- $C_2 = 288.0 \mu\text{g/ml}$
- $C_3 = 298.7 \mu\text{g/ml}$

Moyenne **303.5 = EAG/g**

2. Flavonoïdes totaux

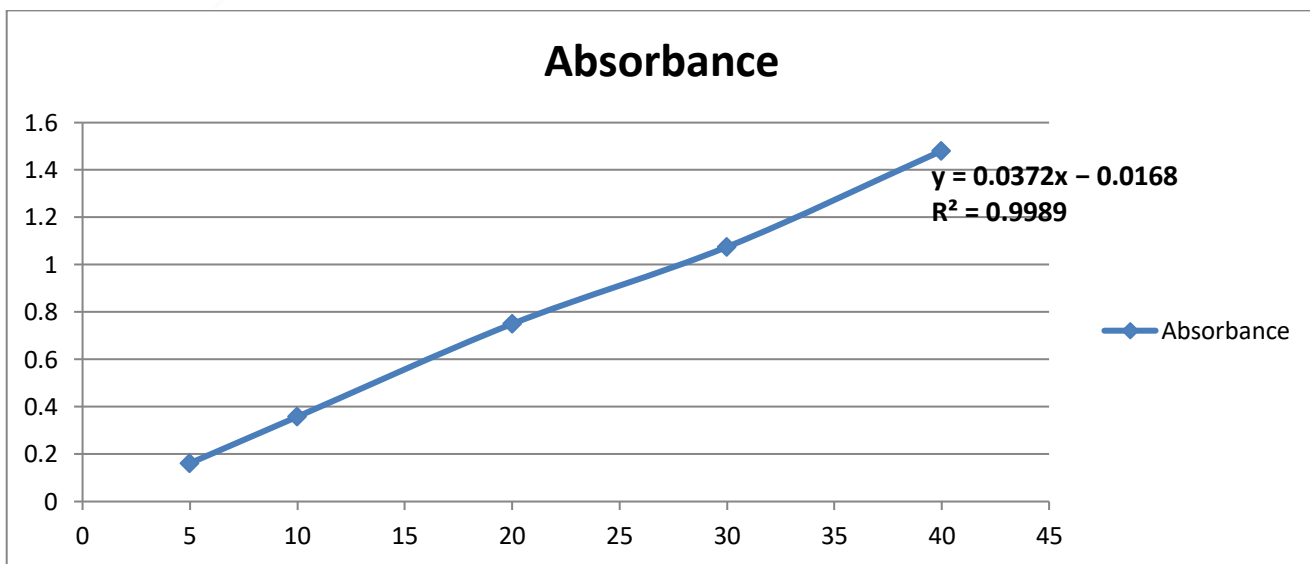


Figure 10 : Courbe d'étalonnage de flavonoïdes totale

Equation de courbe :

$$y = 0.0372x - 0.0168$$

Après correction par le blanc :

- $0.291 - 0.065 = 0.226$
- $0.274 - 0.065 = 0.209$
- $0.258 - 0.065 = 0.193$

Concentration calculée :

- $C_1 = 6.53 \mu\text{g/ml}$
- $C_2 = 6.07 \mu\text{g/ml}$
- $C_3 = 5.64 \mu\text{g/ml}$

Moyenne **6.08 = EQ/g**

3 .Discussion des polyphénols totaux

La teneur élevée en polyphénols totaux obtenue dans l'extrait de *Romarins officinales* témoigne de l'efficacité de la méthode d'extraction utilisée. Les composés phénoliques sont parmi les principaux métabolites secondaires responsables de nombreuses activités biologiques, notamment l'activité antioxydant. La présence d'une quantité importante de ces composés indique que la technique employée a permis une bonne récupération des substances bioactives présentes dans la plante.

4 .Discussion des flavonoïdes totaux

Les résultats du dosage des flavonoïdes montrent également la présence de cette famille de composés dans l'extrait obtenu. Les flavonoïdes sont connus pour leurs propriétés antioxydants et leur contribution aux effets bénéfiques des plantes médicinales. Leur détection confirme que la méthode d'extraction utilisée a permis d'extraire des molécules d'intérêt biologique tout en préservant leurs propriétés.

5 .Interprétation générale

Les teneurs obtenues en polyphénols et en flavonoïdes confirment la richesse de l'extrait en substances bioactives. Ces résultats démontrent que la méthode d'extraction adoptée est adaptée à la valorisation d'*Romarins officinales* et permet l'obtention d'extraits contenant des composés susceptibles d'être exploités dans les domaines pharmaceutique, cosmétique et alimentaire.

6 .Présentation des résultats

Les résultats du test DPPH obtenus pour l'extrait de romarin sont présentés dans le tableau suivant.

Concentration (µg/ml)	Inhibition moyenne (%)
2	25,1
	23
4	41,0
	31
6	57,0
	55

Concentration ($\mu\text{g/ml}$)	Inhibition moyenne (%)
------------------------------------	------------------------

8	70,380
---	--------

10	87,774
----	--------

L'activité antioxydant a été évaluée par la capacité de l'extrait à piéger le radical libre DPPH. Les pourcentages d'inhibition ont été calculés à partir des absorbances mesurées à différentes concentrations.

7 Description de la courbe

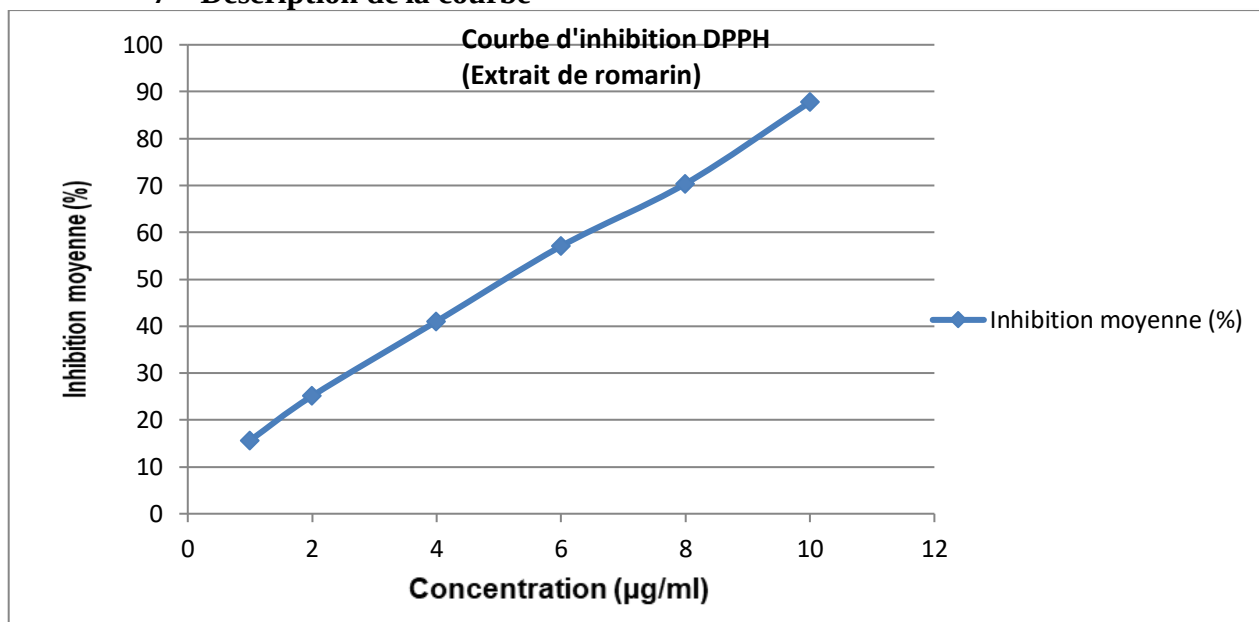


Figure 11: Courbe d'inhibition DPPH

La figure représentant le pourcentage d'inhibition en fonction de la concentration montre une augmentation progressive de l'activité antioxydant avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

On observe que l'inhibition passe de 15,61 % à la concentration de 1 $\mu\text{g/ml}$ à 87,77 % à la concentration de 10 $\mu\text{g/ml}$. Cette évolution traduit une relation dose-effet positive entre la concentration de l'extrait et sa capacité à neutraliser les radicaux libres.

3. Détermination de l'IC50

L'IC50 correspond à la concentration nécessaire pour inhiber 50 % du radical DPPH.

À partir de la courbe obtenue et du calcul par interpolation logarithmique, la valeur de l'IC50 de l'extrait a été déterminée à :

8 IC50 = 3,743 µg/ml

Cette valeur reflète l'efficacité antioxydant de l'extrait étudié.

Les résultats obtenus montrent que l'extrait de romarin possède une activité antioxydant importante. En effet, le pourcentage d'inhibition augmente progressivement avec la concentration, ce qui indique que les molécules antioxydants présentes dans l'extrait sont capables de neutraliser efficacement les radicaux libres du DPPH.

La faible valeur de l'IC50 obtenue (3,743 µg/ml) confirme cette activité antioxydant élevée. Plus la valeur de l'IC50 est faible, plus l'extrait est considéré comme efficace, puisqu'une faible quantité suffit pour réduire 50 % des radicaux libres présents dans le milieu réactionnel.

Cette activité peut être attribuée à la présence de composés phénoliques et flavonoïdiques dans l'extrait de romarin. Ces composés sont connus pour leur capacité à céder un électron ou un atome d'hydrogène aux radicaux libres, interrompant ainsi les réactions d'oxydation.

Les résultats obtenus sont en accord avec plusieurs études rapportant que le romarin constitue une source importante d'antioxydants naturels grâce à sa richesse en polyphénols tels que l'acide rosmarinique, l'acide caféique et différents flavonoïdes.

Le test DPPH a permis de mettre en évidence une activité antioxydant significative de l'extrait de romarin. L'augmentation du pourcentage d'inhibition avec la concentration ainsi que la faible valeur de l'IC₅₀ (3,743 µg/ml) indiquent une forte capacité de l'extrait à neutraliser les radicaux libres. Ces résultats confirment le potentiel antioxydant du romarin et son intérêt comme source naturelle de composés bioactifs.

III.1. Application du plan d'expériences

III.1.1. Choix des facteurs

Notre objectif sert à étudier l'influence de trois paramètres définis dans le tableau III-1, sur **l'extraction des substances bio actives à partir de la Romarin avec des méthodes nouvelles. Ces paramètres sont : le temps, la masse de la plante et la température.** Afin d'optimiser les paramètres de notre étude, nous avons utilisé le modèle d'expérience Box – Behnken à trois facteurs. Les niveaux min (-1) et max (+1), sont notés aussi dans le même tableau :

Tableau III- 1 : Facteurs choisis pour le plan d'expériences

	Facteurs	Min (-1)	Max (+1)
F_1	La masse [g]	1	3
F_2	Le temps [min]	10	30
F_3	La température [C°]	30	50

Ces **facteurs sont choisis en regardant différents recherches bibliographiques** et par des expériences préliminaires. Tous les autres paramètres sont maintenus constants lors des expériences.

La réponse choisie dans cette étude est le rendement de l'extraction.

III.1.2. Modélisation :

J'ai choisi le plan d'expériences de Box-Behnken à trois facteurs, ce modèle comporte 15 résultats expérimentaux (réponses), obtenus lors de la réalisation des 15 essais. Les niveaux de facteurs des expériences sont choisis d'une manière bien déterminée et selon un ordre pris au début. Le tableau suivant regroupe la variété des facteurs et réponse correspondante pour chaque expérience.

Tableau III- 2 : Essais et réponses du plan box-Behnken

Essai N°	F1 (m)	F2 (t)	F3 (T)	R%
1	-1	-1	0	16.00

2	1	-1	0	4.00
3	-1	1	0	10.00
4	1	1	0	5.33
5	-1	0	-1	12.00
6	1	0	-1	3.66
7	-1	0	1	17.00
8	1	0	1	7.33
9	0	-1	-1	9.00
10	0	1	-1	7.5
11	0	-1	1	8.00
12	0	1	1	7.50
13	0	0	0	9.00
14	0	0	0	9.00
15	0	0	0	9.00

Un modèle du deuxième ordre peut être générer par des logiciels de calcul, par exemple Excel et Minitab. Pour déterminer les coefficients du modèle ainsi que les autres paramètres statistiques, le système des 15 expériences s'écrit sous forme matricielle (III-1)

$X A = Y$	(III- 1)
-----------	-----------------

Où :

X : représente la matrice d'entrée ou la matrice des facteurs

A : est les vecteurs des coefficients à déterminer

Y : représente la réponse, dans notre cas, c'est le rendement (noté R)

En remplaçant les différents coefficients dans l'équation du modèle appliqué, nous avons obtenu l'équation mathématique (III- 2) suivante :

$R\% = 9.000 - 4.335 m - 0.834 temps + 0.959 T + 0.790 m * m - 0.958 temps * temps$ $+ 0.207 T * T + 1.832 m * temps - 0.332 m * T$	(III- 2)
---	-----------------

La représentation des coefficients et leurs interactions obtenues, sont rapportées sur l'Erreur ! Source du renvoi introuvable.

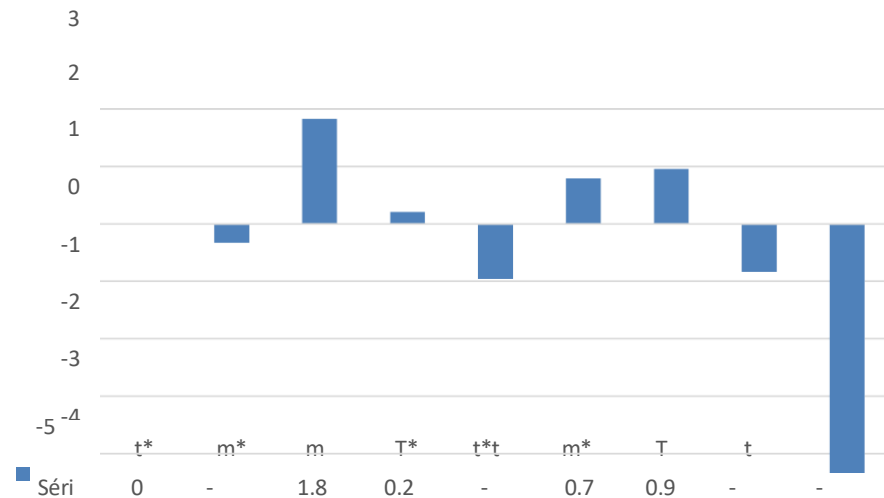


Figure III- 1 : Effet des facteurs principaux et leurs interactions

D'après cette figure, on remarque qu'il y a des facteurs qui influent positivement sur le rendement et des autres influent négativement. L'interaction masse/temps influent positivement sur le rendement avec un coefficient de 1.8 suivie par la température et l'effet quadratique de la masse. Dans le sens contraire, la masse influe négativement sur le rendement avec un coefficient plus élevé (-4.3), suivie par le temps et sont effet quadratique.

III.1.3 Évaluation de l'adéquation de la statistique du modèle

Pour faire une comparaison entre le modèle généré et les valeurs de l'expérience, nous avons tracé les résultats obtenus par l'expérimentation en abscisse et les résultats du modèle sur l'ordonnée, le graphique de la Figure III- 2 montre cette dépendance où on voit une distribution des points bien allongée sur une droite. Un coefficient de détermination $R^2=0.93$ explique une très grande relation linéaire entre les résultats expérimentaux et les valeurs du modèle, cette tendance donne une bonne interprétation pour une justification du modèle trouvé malgré la présence de quelques points qui sont faiblement éloignés de la droite de régression linéaire.

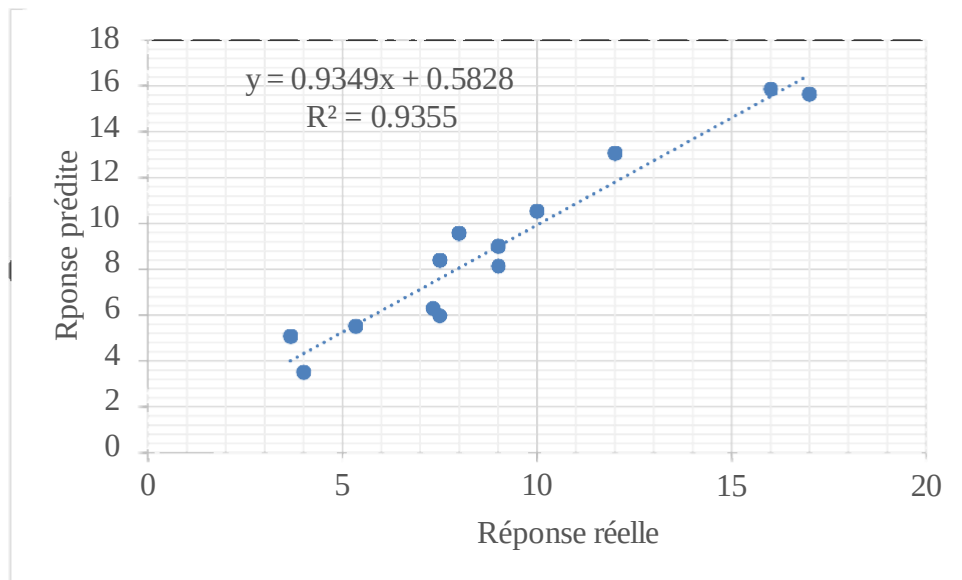


Figure III- 1: Dépendance de la réponse prédite en fonction de la réponse réelle

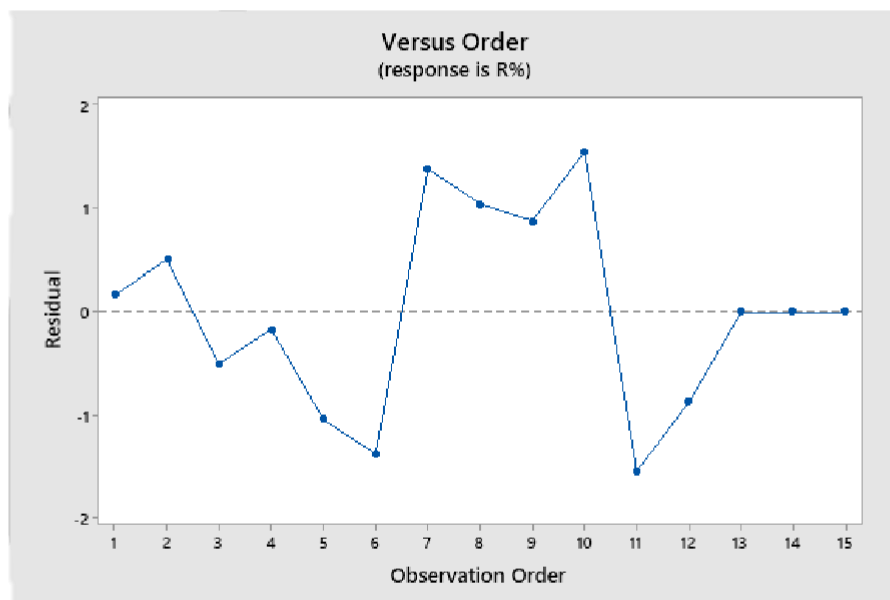


Figure III- 2: Diagramme de dispersion des résidus

Aussi, le diagramme de la dispersion des résidus (**Figure III- 2**), permet d'évaluer la qualité du modèle expérimental utilisé pour étudier l'effet des facteurs étudiés, à savoir la masse, la température et le temps d'extraction.

Les résultats obtenus montrent que la majorité des résidus sont répartis autour de la valeur zéro, ce qui indique une bonne adéquation du modèle avec les résultats expérimentaux. Cette distribution traduit une faible différence entre les valeurs expérimentales et les valeurs prédites.

D'autre part, la dispersion des résidus reste relativement faible, malgré la présence de quelques valeurs éloignées (expériences 6, 7, 9 et 10), ces erreurs sont dues généralement à la procédure expérimentale. Les erreurs expérimentales sont un peu limitées et que le modèle statistique est acceptable.

III.1.3. Justification du modèle est signification des facteurs

On première étape, le modèle de régression peut être justifié par le coefficient de détermination R^2 , si sa valeur est proche de l'unité (1) le modèle d'ajustement est justifié, dans notre cas d'étude $R^2 = 0.93$, il est vraiment proche de 1, le $R^2_{adj} = 0.82$ il est aussi proche de R^2 . Cela justifie une validation du modèle.

L'autre méthode est l'utilisation de l'ANOVA, cette dernière se résume dans ce

tableau :

Source de	SC	DDI	CM	F_0	F_α
modèle	185,44	9	20,604	8,045	4,7725
résiduel	12,804	5	2,5608		
total	198,24	14			

Dans notre étude, on a utilisé un niveau de signification $\alpha = 5\%$. Et comme $F_0 = 8,0459 >$

$F_\alpha = 4.77$, on accepte alors l'hypothèse qui signifie qu'il y a une dépendance entre la variable d'entrée (les facteurs) et la réponse (Re) et par conséquent, le modèle est valide.

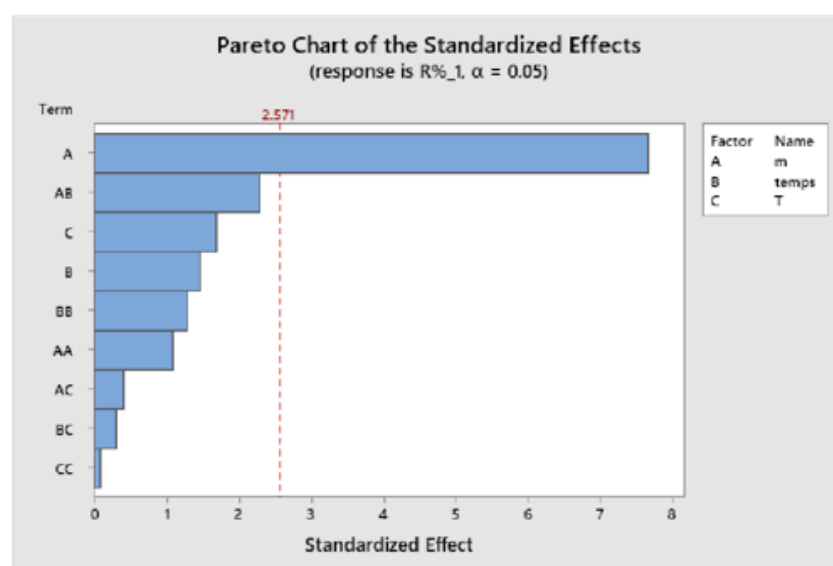


Figure III- 3: Diagramme de dispersion des résidus

Tandis que pour la signification des facteurs, on a utilisé le diagramme de Pareto des effets normalisés. Les termes significatifs sont ceux qui ont une valeur supérieure ou égale à

2.57 (figure III-4), on remarque que le facteur le plus significatif est la masse « m » comme indiquer dans la figure III-1. Les autres facteurs ont une très faible signification om pas du tout, la valeur qui justifie la signification est la p-valeur (tableau III-4).

Term	Coef	P-Value
m	-4.335	0.001
temps	-0.834	0.201
T	0.959	0.151
m*m	0.915	0.322
temps*tem	-1.083	0.250
T*T	0.082	0.925
m*temps	1.832	0.071
m*T	-0.332	0.695
temps*T	0.250	0.767

III.1.4. Diagrammes des effets principaux

Le diagramme des effets principaux nous renseigne sur l'influence simultanée de tous les facteurs sur l'extraction.



Figure III- 4 : Diagramme des effets principaux pour la quantité du rendement de l'extraction

On assiste ici à trois cas différents :

L'influence de la masse est la plus remarquable, sa variation du niveau -1 (valeur minimale) au niveau +1 (valeur maximale) conduit à une grande diminution de la matière extraite, cette diminution est justifiée par la pente de la courbe, une grande pente signifie une haute diminution de R% de 14% à 5.5%.

Pour le temps, on voit deux domaines, entre -1 et 0, dans ce domaine, l'augmentation du temps d'extraction conduit à une faible augmentation du rendement. A partir du niveau 0 le rendement diminue avec l'augmentation du temps pour atteindre une valeur d'environ 7% pour une durée maximale de 30 min.

La température à un effet inverse à celui de la masse sur le rendement, l'augmentation de T influe positivement le rendement, cette tendance est presque linéaire, l'augmentation de la température de sa plus petite valeur 30°C à sa valeur maximale 50 °C, conduit à une augmentation de R jusqu'à 10%.

III.1.5. Diagrammes des effets d'interactions des facteurs sur l'adsorption

Les diagrammes des interactions (**Figure III- 5**) sont généralement utilisés pour visualiser les interactions pendant une opération ANOVA, dans laquelle l'effet d'un facteur dépend du niveau d'un autre facteur.

Remarque Les diagrammes montrent que plus la différence de pente est grande entre les lignes, plus le degré d'interaction est élevé. Si les courbes sont parallèles indiquent l'absence d'interactions.

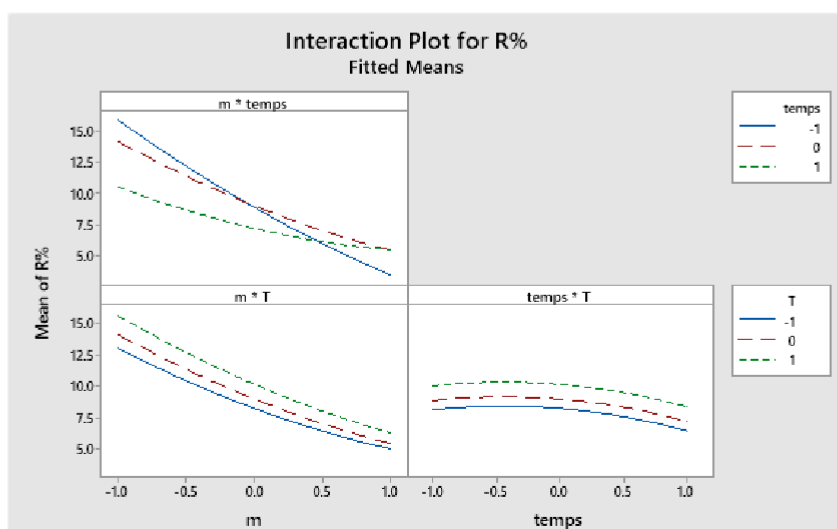


Figure III- 5: Diagramme des effets principaux pour l'adsorption

D'après cette figure, on constate qu'il n'y a aucune interaction entre les deux figures en bas. L'augmentation du temps n'a pas d'influence significative sur R%, le rendement est maximale pour une température maximale et vaut environ 10%.

Pour les courbes m/T, le rendement maximale est 16 %, cela pour m (-1) et T (+1), l'augmentation de m conduit à une diminution significative de R% pour toute la plage de températures.

Dans le dernier graphique, on assiste à une interaction remarquable entre la masse et le temps. Au premier lieu, R% est maximale pour le point (m, t) = (-1,-1-), c'est-à-dire des valeurs minimales en temps et en masse, cela reste valable jusqu'à une valeur moyenne de la masse (indice 0) . L'augmentation de m de sa valeur moyenne à la valeur maximale donne un rendement max pour une durée de temps moyenne (changement de la courbe bleue à la courbe de couleur rouge).

III.1.6. Graphiques de surfaces et des contours

A partir du modèle mathématique validé et à l'aide du logiciel, on réalise les diagrammes de surfaces en 3D et les graphiques des contours 2D. Ces graphiques permettent de rechercher des solutions optimales plus désirables avec une meilleure précision possible. Cela nous permet d'examiner les résultats plus nettement. Les courbes de contour sont générées à l'aide du logiciel MINITAB 19 par la combinaison des trois facteurs induits. Nous avons choisi à chaque fois deux facteurs représentés sur les axes X et Y. La valeur de la réponse est représentée par une région ombragée dans la courbe de contour 2D.

Ces graphiques sont rassemblés dans la figure III-7 ci-dessus. Les graphiques à gauche, représentent les diagrammes de surfaces en trois dimensions pour chaque couple de facteur et les figures à droite sont les diagrammes de contours ; ils présentent la projection des graphiques de surfaces sur le plan réalisé par les facteurs. A titre d'exemple, La figure (a-1) montre la variation de la quantité de matière extraite en fonction des facteurs t et m, on peut avoir une idée globale sur l'évolution de la réponse R% avec la variation des deux facteurs. Le rendement est minimale pour une valeur maximale de m et une valeur minimale de t, si on maintien t dans sa valeur min (indice -1) et on diminue la masse, Une évolution remarquable de R% est notée, cela est représenté par une variation des zones et de couleurs,

De la couleur verte claire au vert très sombre, schématisé sur la figure (a-2). La valeur maximale du rendement est supérieur à 15%.

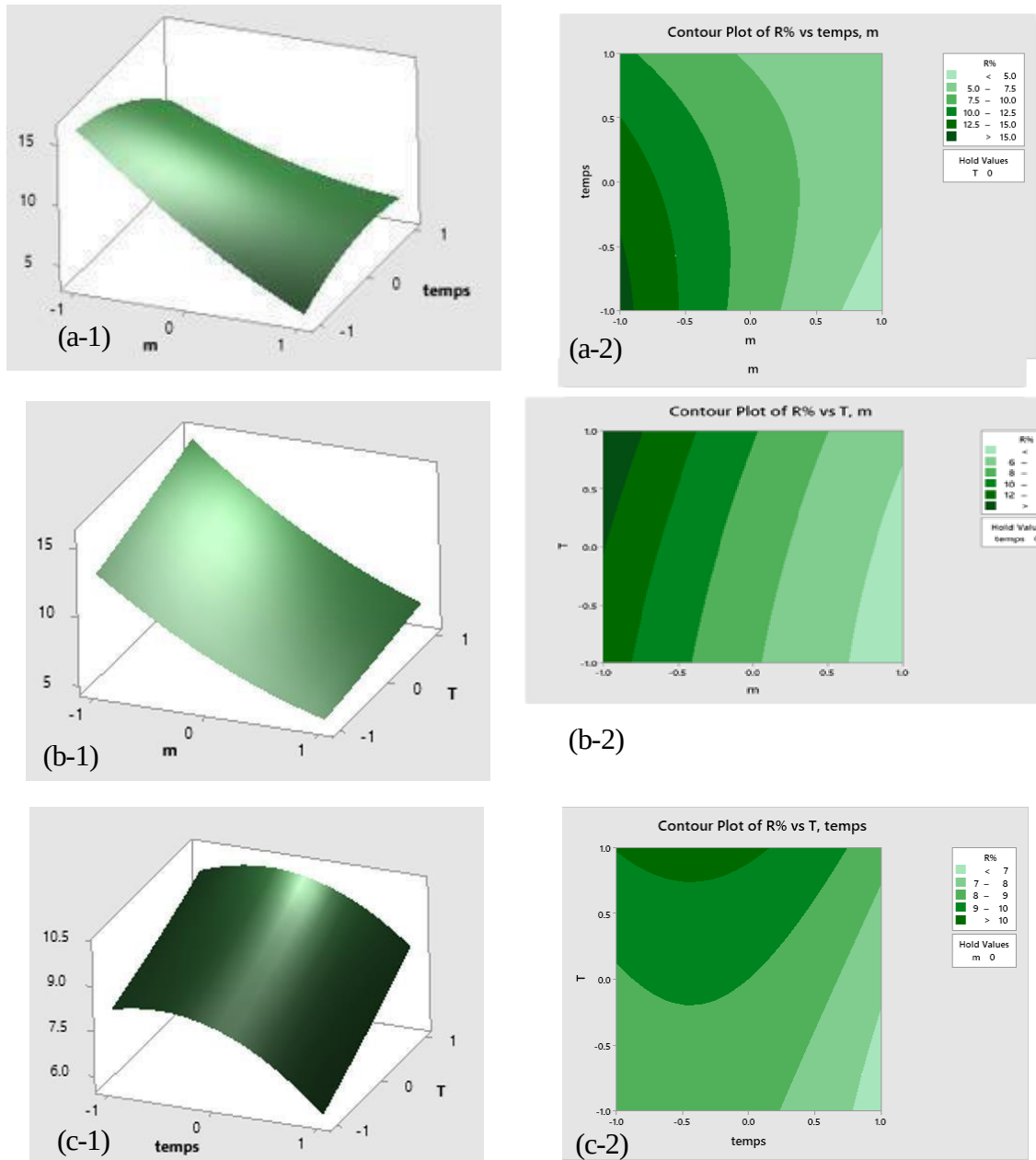


Figure III- 7: Diagrammes de surfaces pour le rendement

Par analyse des autres figures, on peut noter les remarques suivantes :

- Il y a une variation presque linéaire de R% en fonction de m et T, cela est marqué par les zones presque parallèles (b-2).

m est maximale et toute la plage de température, cela donne un faible rendement

m est minimale et pour toute la plage de température, cela donne un grand rendement

- Pour la dernière figure (c-1 et 2), la valeur maximale de R est marquée par de faibles durée entre (-1 et 0), et de hautes températures au voisinage de 50°C.

III.1.7. Optimisation des paramètres qui maximise la réponse

Pour avoir les valeurs des trois facteurs utilisés dans le plan d'expérience qui maximisent la réponse, nous avons utilisé le Minitab qui nous a donné le résultat suivant, ces données sont regroupées par la suite dans le **Tableau III- 5**

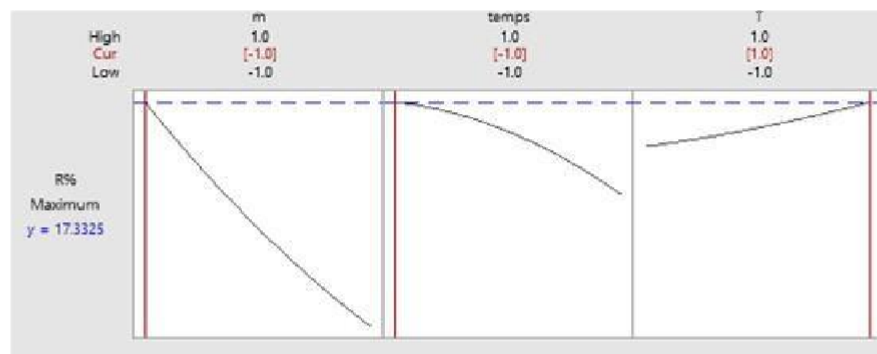


Figure III- 6: Optimisation de R%

Tableau III- 5 : paramètre d'optimisation

	F1 (m)	F2 (t)	F3 (T)
Indice	-1	-1	1
Valeur réelle	1	10	50

Afin de valider ces résultats par l'expérience, nous attendons une valeur du rendement 17%. Cette valeur reste à vérifier par l'expérience.

Conclusion générale

Cette étude a permis de comparer différentes méthodes d'extraction des composés bioactifs du Romarin (*Rosmarinus officinalis*), en mettant l'accent sur les techniques vertes d'extraction. Les résultats obtenus ont montré que les méthodes assistées par ultrasons et par micro-ondes offrent des rendements d'extraction supérieurs à ceux de la macération conventionnelle. L'extraction assistée par ultrasons a présenté le meilleur rendement (53 %), suivie de l'extraction assistée par micro-ondes (42 %), alors que la macération n'a donné qu'un rendement de 12 %.

Les dosages des composés phénoliques ont révélé une teneur moyenne en polyphénols totaux de 303,5 mg EAG/g d'extrait et une teneur moyenne en flavonoïdes totaux de 6,08 mg EQ/g d'extrait, confirmant la richesse de l'extrait de romarin en composés bioactifs.

L'évaluation de l'activité antioxydante par le test DPPH a mis en évidence une forte capacité de piégeage des radicaux libres, avec une valeur d'IC₅₀ de 3,743 µg/ml, traduisant un pouvoir antioxydant élevé.

L'étude du plan d'expériences a également montré que la masse de matière végétale constitue le facteur le plus influent sur le rendement d'extraction. Les résultats obtenus confirment l'intérêt des technologies vertes pour la valorisation des plantes médicinales, grâce à leur efficacité, leur rapidité et leur faible impact environnemental.

En perspective, des études complémentaires pourraient être menées afin d'optimiser davantage les conditions opératoires et d'identifier précisément les composés bioactifs responsables des activités biologiques observées.

Références bibliographiques

- [1] "The Journal of Phytopharmacology," vol. 12, no. 3, pp. 189–195, 2023.
doi:10.31254/phyto.2023.12307.
- [2] M. Azmir, et al., "Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review," **J. Food Eng.**, 2013; E. Herrero, et al., 2010.
- [3] L. Wang and C. Weller, "Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: a review," **Trends in Food Science & Technology**, vol. 17, no. 6, pp. 300–312, Jun. 2006.
- [4] M. Heinrich, M. Leonti, S. Nebel, et al., "Ethnopharmacology and drug discovery," **Journal of Ethnopharmacology**, vol. 251, p. 112530, 2020.
- [5] GMP Inspection, "Médicinal plants." Disponible sur: <https://gmp-inspection.com/en/glossary/medicinal-plants/>
- [6] G. M. Cowan, "Les plantes synthétisent une grande variété de métabolites secondaires," 1999; R. Pandey and S. Rizvi, 2009.
- [7] S. Gell, "Pharmacognostic Analysis of Medicinal Plants: A Review," **Alt Integr Med**, vol. 13, p. 536, 2024.
- [8] P. Sunitha, "A study of ethnomedicinal practices to cure human diseases using medicinal plants," **International Journal for Advanced Research in Science & Technology**, vol. 11, p. 754, 2021.
- [9] Thérascience, "Site officiel." Disponible sur: https://www.therascience.com/fr_fr/
- [10] K. T. Chung, T. Y. Wong, C. I. Wei, Y. W. Huang, and Y. Lin, "Tannins and human health: A review," **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, vol. 38, no. 6, pp. 421–464, 1998.
- [11] F. Cosme, A. Aires, T. Pinto, I. Oliveira, A. Vilela, and B. Gonçalves, "A comprehensive review of bioactive tannins in foods and beverages: Functional properties, health benefits, and sensory qualities," **Molecules**, vol. 30, no. 4, p. 800, 2025.
- [12] A. Masyita, R. M. Sari, A. D. Astuti, B. Yasir, N. R. Rumata, T. B. Emran, F. Nainu, and J. Simal-Gandara, "Terpenes and terpenoids as main bioactive compounds of essential oils, their roles in human health and potential application as natural food preservatives," **Food Chemistry: X**, vol. 13, p. 100217, 2022.
- [13] M. Heinrich, J. Mah, and V. Amirkia, "Alkaloids used as medicines: Structural

phytochemistry meets biodiversity—An update and forward look,"

Molecules, vol. 26, no. 7, p. 1836, 2021.

[14] B. Aryal, B. K. Raut, S. Bhattarai, et al., "Potential therapeutic applications of plant-derived alkaloids against inflammatory and neurodegenerative diseases," **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, vol. 2022, p. 7299778.

[15] S. Kumar and A. K. Pandey, "Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview," **The Scientific World Journal**, vol. 2013, p. 162750.

D. I. Osmakov, A. P. Kalinovskii, O. A. Belozeroval, Y. A. Andreev, and S. A. Kozlov, "Lignans as pharmacological agents in disorders related to oxidative stress and inflammation," **International Journal of Molecular Sciences**, vol. 23, no. 11, p. 6031, 2022.

[16] M. Leplat, "Le Romarin, *Rosmarinus officinalis* L., une Lamiacée médicinalement de la garrigue provençale," vol. 33, p. 209, 2017.

[17] F. Gigon, **50 plantes efficaces pour vous soigner**. Éditions d., 2014. Disponible sur: <https://halldulivre.com/livre/9782360753215-50-plantes-efficaces-pour-vous-soigner-franck-gigon/> (consulté le 12 juillet 2021).

[18] C. Hoefler, "Contribution à l'étude pharmacologique des extraits de *Rosmarinus officinalis* L., notamment des jeunes pousses: activités cholérétiques, anti-hépatotoxiques, anti-inflammatoires et diurétiques," 1994.

[19] Z. D. Zigene, B. T. Asfaw, and T. D. Bitima, "Analysis of genetic diversity in rosemary (*Salvia rosmarinus*) using SSR molecular marker," **Genetic Resources and Crop Evolution**, vol. 68, no. 1, pp. 279–293, 2021.

[20] D. Banjaw, T. G. Wolde, A. M. Gebre, and B. Mengesha, "Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) variety verification trial at Wondogenet, South Ethiopia," **Med Aromat Plants**, vol. 5, p. 267, 2016.

[21] M. ., "[Santé magazine]," 2024. Mis à jour le 30 mai 2024, en collaboration avec J.-M. Morel et S. Sarfati.

[22] M. G. Rasul, "Conventional extraction methods use in medicinal plants, their advantages and disadvantages," **International Journal of Basic Sciences and Applied Computing (IJBSAC)**, vol. 2, no. 6, 2018.

[23] R. Martins, A. Barbosa, B. Advinha, H. Sales, R. Pontes, and J. Nunes, "Green extraction techniques of bioactive compounds: A state-of-the-art review," **Processes**, vol. 11, no. 8, p.

2255, 2023.

[24] E. El Maaiden, S. Bouzroud, B. Nasser, et al., "A comparative study between conventional and advanced extraction techniques: pharmaceutical and cosmetic properties of plant extracts," **Molecules**, vol. 27, no. 7, p. 2074, 2022.

[25] S. Palmieri, M. Pellegrini, A. Ricci, D. Compagnone, and C. Lo Sterzo, "Chemical composition and antioxidant activity of thyme, hemp and coriander extracts: a comparison study of maceration, soxhlet, UAE and RSLDE techniques," **Foods**, vol. 9, no. 9, p. 1221, 2020.

[26] O. Gligor, S. Clichici, R. Moldovan, et al., "The effect of extraction methods on phytochemicals and biological activities of green coffee beans extracts," **Plants**, vol. 12, no. 4, p. 712, 2023.

[27] M. M. A. N. Ranjha, S. Irfan, J. M. Lorenzo, et al., "Sonication, a potential technique for extraction of phytoconstituents: a systematic review," **Processes**, vol. 9, no. 8, p. 1406, 2021.

[28] F. Teixeira, A. M. Silva, S. Sut, et al., "Ultrasound-assisted extraction of bioactive compounds from goji berries: Optimization, bioactivity, and intestinal permeability assessment," **Food Research International**, vol. 188, p. 114502, 2024.

[29] J. A. Moretto, A. O. de Souza, L. M. Berneira, et al., "Microwave-assisted extraction of fatty acids from cultured and commercial phytoplankton species," **Applied Sciences**, vol. 12, no. 5, p. 2407, 2022.

A. Dobrinčić, M. Repajić, I. E. Garofulić, L. Tuđen, V. Dragović-Uzelac, and B. Levaj, "Comparison of different extraction methods for the recovery of olive leaves polyphenols," **Processes**, vol. 8, no. 9, p. 1008, 2020.

[31] V. L. Singleton and J. A. Rossi, "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents," **American Journal of Enology and Viticulture**, vol. 16, no. 3, pp. 144–158, 1965.

1 Annex

Matériel utilisé

Matériel / Appareil	Utilisation
Balance analytique	Pesée de la matière végétale et des extraits
Broyeur électrique	Broyage des feuilles de romarin
Étuve	Séchage de la matière végétale
Bain à ultrasons	Extraction assistée par ultrasons (UAE)
Four à micro-ondes	Extraction assistée par micro-ondes (MAE)
Évaporateur rotatif	Élimination du solvant et concentration des extraits
Spectrophotomètre UV-Visible	Mesure des absorbances pour les dosages et le test DPPH
Erlenmeyers (250 mL)	Préparation des mélanges d'extraction
Béchers (100 mL et 250 mL)	Préparation des solutions
Fioles jaugées	Préparation des solutions étalons
Éprouvettes graduées	Mesure des volumes
Micropipettes automatiques	Distribution précise des réactifs
Pointes de micropipettes	Utilisation avec les micropipettes
Tubes à essai	Réalisation des dosages
Papier filtre	Filtration des extraits
Entonnoirs	Filtration
Flacons ambrés	Conservation des extraits
Agitateur en verre	Homogénéisation des solutions
Thermomètre	Contrôle de la température
Réfrigérateur (4 °C)	Conservation des extraits
Bain-marie (si utilisé)	Chauffage modéré des solutions
Ordinateur équipé d'Excel et Minitab 19	Traitement statistique et plan d'expériences
Appareil photo numérique / Smartphone	Prise des photographies expérimentales

Réactifs utilisés

- Éthanol 70 %
- Eau distillée
- Réactif de Folin-Ciocalteu
- Carbonate de sodium (Na_2CO_3)
- Acide gallique
- Chlorure d'aluminium (AlCl_3)
- Quercétine
- Méthanol
- DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)