UNIVERSITE YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DES SCIENCES DE LA MATIERE

Mémoire

Présenté pour obtenir le diplôme de **Master** :
En Chimie

Spécialité : Chimie pharmaceutique

Présenté par :
HAMIDI Ihcene
HADJADJ Khadidja

Thème :

Optimisation d'une méthode d'extraction des polyphénols à partir des feuilles des babicier

Soutenu publiquement le 20/06 /2022, devant le jury composé de :

M^me^ LEFNAOUI.S	Grade :P	Université de Médéa	Présidente
M^me^ MADANI . L	Grade :MCB	Université de Médéa	Examinatrice
M^me^ GHARDAOUI .D	Grade :MCB	Université de Médéa	Encadreur
M^me^ BOUAZZA. F	Grade :MCA	Université de Médéa	Co-Encadreur

Année Universitaire 2021/2022

Remerciment

Nous remercions en premier lieu Dieu le Tout Puissant de nous avoir dotés de courage, de force et de capacité nécessaire pour réaliser ce mémoire.

Notre immense reconnaissance, gratitude et remerciements vont à notre cher promoteur Dr.GHARDAOUI Dahbia, et Mme. BOUAZZA Fatma Professeurs à l'Université YAHIA Fares de MEDEA pour son dévouement, son professionnalisme et pour tout le temps qu'il nous a consacré afin qu'on puisse mener à bien notre tâche.

Nos remerciements vont également à P. LEFNAOUI Sonia, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury de ce mémoire.

Nous remercions aussi Dr. MADANI Leila, d'avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos profondes reconnaissances s'adressent à tous les enseignants du département de Science de la matière qui ont contribué à notre formation tout le long notre cursus Universitaire.

Enfin, un grande merci à tous ceux qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

A mon père, singe de fierté et d'honneur, mon modèle…

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour eux, que DIEU vous protège, une longue vie inchallah.

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'à donné la vie, le symbole de tendresse, qui a sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma mère…

A mes chère sœurs : Aya, Imane.

A mes chère frère : Yakoub, Lokman.

A tout la famille HAMIDI et KIKOUT, Surtout ma chère tante Hamida qui m'a accompagné tout au long de mon carrière d'étude.

A mon binôme Khadidja qui à partagée avec mois les moments difficiles de ce travail et tout le long notre cursus Universitaire.

A toute mes amies chacune à son nom. je remercie ma collègue de classe M. zaki

A tout mon promo chimie pharmaceutique 2021/2022.

Ihcene

Dédicace

Avant de dédier ce travail, je remercie

d'abord mon Dieu le tout

puissant qui m'a aidé à le réaliser

A mon très chère Parents

A mes très chers Frères et sœurs

A ma chere binome Ihcene

Pour tous les moments difficiles de ce travail

A Tous mes amies surtout :H-N-Y.

En fin :je remercie L'ingenieur de labo

madame sarah et Mensieu F.Hasni et

madame kikout .A

Et un grand mercie pour professeur

Houatis et ma sœur Rabia .

Khadidja

الملخص:

أجريت هذه الدراسة بهدف تحسين طريقة إستخلاص مادة البوليفينول الكلي عن طريق النقع (الساخن والبارد) من أوراق الزعرور *Mespilus germanica L* (المشيمشة) واختبار نشاطها المضاد للبكتيريا . باستخدام طريقة سطح الاستجابة التي طورتها خطة box-behnken (BBD) . تم تحديد أفضل الشروط العملية لاستخلاص المركبات الفينولية ،وأظهرت النتائج مردود أفضل بنسبة% 25.45 من الشروط المثلى للاستخلاص بالنقع البارد ميثانول /ماء 75% عند درجة حرارة 20 درجة مئوية ،لمدة 24 ساعة ، حجم المذيب 15 مل ، عدد دورات جهاز الطرد الركزي كان 4500 دورة لمدة 10 دقائق .أتاحت المعالجة الاحصائية لنتائج الاستخراج الحصول على معامل ارتباط لتفاعلين (R^2=93%) وارتباط لثلاثة تفاعلات (R^2=96%) باستخدام برنامج (Xstat ANOVA) .

أظهرت المستخلصات من هذا النوع فعالية قوية مضادة للجراثيم ضد القلونيات ومعتدلة ضد الإشريشية القولونية.

الكلمات المفتاحية : *لميسبيليس جارمانيكا* L، البوليفينول الكلي ، معامل الارتباط ، مردود الاستخلاص ، التصميم التجريبي ، الانشطة المضادة للبكتيريا .

Résumé :

Cette étude à été menée dans le but d'optimiser la méthode d'extraction de polyphénole totaux par la macération (à chaude et à froid) à partir des feuilles *Mespilus germanica* L(Néflier) et de tester son activité antibactérienne . En utilisant la méthode de surface de réponse développée par le plan de box-behnken (BBD),a fin déterminer les meilleures conditions d'extraction des composés phénoliques .Les résultats indiquent un meillieur rendement de 25.45% dans des conditions optimales pour l'extraction par macération à froid ont été :mélange de Méthanole /eau à 75%, à une température 20C°, pendant 24 h , une volume de solvant 15 ml ,nombre de tours 4500 et pendant 10 min/tours . Le traitement statistique des résultats du rendement d'extraction a permis d'obtenir le ceofficient de corrélation de deux intéraction (R^2=93%) et de bonne corrélation à trois intéraction (96%) à l'aide d'un programme (XSTAT ANOVA).

Les extraits de cette espèce ont montré une forte activité antibactérienne à l'égard de *Coliforme* et moyenne contre les deux types *Escherichia coli*.

Mots clés : *mespilus germanica* L ,Polyphénols totaux, Facteur de corrélation , rendement d'extraction , Plan d'expérience , activité antibactérienne

Abstract :

This study was conducted to optimize the extraction of phenolic by maceration (hot and cold) from *Mespilus germanica* L leaves and testing its antibacterial activity.Using the reponse surface method developed by the box-behnken (BBD) plan ,an end determined by the best conditions of compound extraction .The results indicate a better yield of 25.45% of

the optimum conditions for extraction by maceration .Cold were mixed with methanol/water at 75% ,at a temperature of 20C° ,for 24h ,a volume of solvent 15 ml ,number of turns 4500 and for 10 min/turns.The statistical treatment of the results of extraction yield made it possible to obtain the coefficient of correlation of two interactions (R^2=93%)and good correlation of three interaction (R^2=96%) using the programme (Xstat ANOVA)

The extracts of this species showed strong antibacterial activity with respect to *coliform* and average against the two types *Escherichia coli* .

Key words: *Mespilus germanica* , Total polyphenols , correlation factor , extraction yield , experience plan , antibacterial activity

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumer

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste de schéma

Liste des abréviations

Introduction général…… 01

Partie 1 :Etude bibliographique

<u>Chapitre I</u>: généralités sur maspilus germanica L (néflier)

I.1-Définition des plantes médicinales ……..... 3

I.1.1-L'origine des plantes médicinale …….....4

I.1.1.1-Les plantes spontanées…….....4

I.1.1.2-Les plantes cultivées ……..... 4

I.2-Présentation de la famille de rosacée…….....4

I.2.1-Généralité sur les rosacées…….....6

I.2.1.1-Caractéres généraux des rosacées……...7

I.2.1.2-Morphologie…….....7

I.2.1.3-Classification decronquist …….....8

I.2.1.4-Classification APG-III…….....8

I.2.1.5-Sous-Familles des rosacées……..…...9

I.2.2-Description botanique de La famille de rosacée…….....9

I.2.3-Utilisation des rosacées……...…….....10

I.3-Historique du Néflier.....10

I.3.1- Généralité sur Mespilus germanica L 11

I.3.2-Etute botanique de mespilus germanica L (néflier)…….....…….....11

I.3.2.1-Origine de nom…….....11

I.3.2.2-Description botanique…….……...…….....11

I.3.2.3-Classification botanique…….…….....12

I.3.3-Composant chimique des feuilles du néflier…….…….....13

I.3.3.1-Phénols…….……...…..13

I.3.3.2-Tanins…….…….....14

I.3.3.3-Flavonoides…….……...……...14

I.3.3.4-Triterpénes…….……...…….....14

I.3.4-Utilisation et propriétes thérapeutique du Néflier…….……...…….....14

I.3.4.1-Activité antioydant…….……...…….....15

I.3.2.5.2-Activité anti-inflammatoire…….……....16

I.3.2.5.3-Activité antibactérienne…….....16

***Chapitre II*: Plan d'expérience et ces application**

II.1. Introduction …….……...18

II.2-Principe de base des plans d'expériences……..18

II.3-Notion de plan d'expérience ……..…….....18

II.3.1-Les facteurs……19

II.3.2-Variable codée …….. 20

II.3.3-Réponse ……..... 21

II.3.4-Domaine expérimentale……..22

II.3.5-Surface de Réponse…….22

II.3.6-Effet d'un facteur…….....23

II.3.7-Matrice d'expérience……. 24

II.3.8-Intéraction…….....25

II.4-Condition d'application des plans d'expériences……...……..26

II.5-Types des plans d'expériences…….…….. 26

II.5.1- Plan d'expériences pour modèle d'ordre un……..27

II.5.2-Plan d'expérience pour modèles à effets d'intéraction (plan factoriels complet)……...27

II.5.2.1-Plan à deux facteurs…….....27

II.5.2.2-Plan factoriels à k facteurs……..……28

II.5.2.3-Plan factoriels complets à trois niveaux……...28

II.5.3-Plan d'expériences pour surfaces de réponces…….....29

II.5.3.1-Plan de composite centrée …….....29

II.5.3.2. Les plans de Box-Behnken.....30

II.6-Analyse statistique par analyse de variance…….....….31

II.6.1-Les concepts statistiques appliquées aux plan d'expériences……...…..…31

II.7-L'importance des plan d'expériences…….....34

II.8-Conclusion……..……34

Partie 2 :Etude Expérimentale

Chapitre III : Matériel et Méthodes

III.1-Matériels……..……...37

III.1.1-Matériel biologique…….....37

1-Séchage.....38

2- Broyage et conservation de la poudre.....38

III.2-Méthodes……..…...…38

III.2.1-Macération et extraction des composés phénoliques……..…….....38

III.2.2-la méthode de la surface de réponse (RMS)…….....40

III.2.2.1-Choix du plan d'expériences.....40

III.2. 3.Préparation des solvants.....41

III.3-Activité antibactérienne…….....47

III.3.1-Matériel 47

III.3.2-Méthode.....48

III.3.2.1-Préparation des bactéries 48

III.3.2.2-Préparation des milieu de culture.....48

III.3.2.3-Ensemencement 48

III.3.2.4-Application des disque 48

Chapitre IV : Résultats et discussions

IV.1-Résultats et discussion.....51

IV.1.1-détermination du rendement d'extraction.....51

IV.1.2-Plan de Box-Behnken.....52

IV.2.3-Analyse de variance(ANOVA).....52

IV.1.4-Statistique descriptives.....53

IV.1.5--Régression de la variable rendement(ANOVA 2).....54

IV.1.6-Coefficient d'ajustement.....56

IV.1.7-Prédictions et résidus.....57

IV.1.8-Graphiques moyenne.....58

IV.1.9-Modele mathématiques.....64

IV.2-Régression de la variable Rendement (ANOVA 3).....66

IV.2.1-Synthèse de la sélection des variables.....66

IV.2.2-Coefficients d'ajustement.....67

IV.2.4-Prédictions et résidus.....68

IV.2.5-Graphiques des moyennes.....70

IV.2.6-Modèle mathématiques 72

IV.2.7-Comparaison.....73

IV.2.8-Conclusion.....74

Sous Chapitre V : *Résultats et discussions d'activités antibactériennes*

IV.3- Résultat et discussion.....76

IV.3.1-Activité antibactérienne.....76

Conclusion Générale.....80

Référence bibliographique

Annexes

Liste des Figures

Partie 1 :		
Chapitre I :*Généralité sur mespilus germanica L (Néflier)*		
Figure I.1	Fleur cerisier des oiseau	*06*
Figure I.2	Fleur de fraisier des bois	*06*
Figure I.3	Fleur de néflier	*06*
Figure I.4	classificationAPG-III	*09*
Figure I.5	Rosacées	*11*
Figure I.6	Fruite de néflier	*13*
Figure I.7	Arbre de néflier	*13*
Figure I.8	feuille de néflier	*13*
Chapitre II *:plan d'expérience et ces application*		
Figure II.1	schématisation d'un dispositif expérimental	*18*
Figure II.2	Domaine de variation d'un facteur	*2*
Figure II.3	transformation des coordonnées réelles en coordonnées centrées réduites	*21*
Figure II.4	Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étude défini par l'expérimentateur	*22*
Figure II.5	L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étude forme la surface de réponse	*23*
Figure II.6	Illustration d'un effet d'un facteur	*24*
Figure II.7	illustration d'une intéraction	*25*
Figure II.8	surface de réponse	*29*
Figure II.9	plan composite centré	*30*
Figure II.10	plan de box-behnekn	*31*

PartieII : ***Chapitre III:****Matériel et Méthode*		
Figure III.1	photographie de la plante Mespilus germanica L (Néflier).	*37*
Figure III.2	la poudre de feuilles sèches.	*37*
Figure III.3	les feuilles séchées.	*38*
Figure III.4	schéma répartition les étapes de macération.	*38*
Figure III.5	évaporateur rotatif.	*42*
Figure III.6	L'extrait après filtration	*44*
Figure III.7	L'extrait après évaporation	*44*
Figure III.8	L'extrait à conservé	*44*
Figure III.9	les souches bactérienne.	*47*
Figure III.10	l'ensemensement	*48*
Figure III.11	l'application des disques.	*49*
Chapitre IV :*Résultats e discussions*		
Figure IV.1	Représentation graphique de rendement en fonction de la prédiction Rendement.	*57*
Figure IV.2	Représentation graphique résidus normalisés en fonction prédiction Rendement.	*58*
Figure IV.3	Représentation graphique résidus normalisés en fonction prédiction Rendement.	*58*
Figure IV.4	Etude effet de la polarité du solvant*nombre de tours.	*69*
Figure IV.5	Etude effet de la température*temps.	*60*
Figure IV.6	Etude effet de volume de solvant *temps agitation.	*61*
Figure IV.7	Etude effet de temps*température.	*62*
Figure IV.8	Etude effet de temps*temps agitation.	*63*
Figure IV.9	Etude effet de nombre de tours*polarité du solvant	*64*

Figure IV.10	représentation graphique rendement en fonction prédiction rendement.	*68*
Figure IV.11	Étude effet de la polarité du solvant *temps	*69*
Figure IV.12	Etude effet de la température*nombre de tours	*70*
Figure IV.13	Etude effet de la temps*polarité de solvant	*71*
Figure IV.14	Etude effet de nombre de tours*température .	*72*
Figure IV.15	Représentation graphique rendement en fonction de prédiction rendment ANOVA2	*74*
Figure IV.16	Représentation graphique rendement en fonction de prédiction rendment ANOVA3	*74*
Sous chapitre V :*Résultats et discussion d'activités antibactéeienne*		
Figure V.1	le résultat de coliforme après 24h d'incubation à 37°	*77*
Figure V.2	le résultat E. coli type 1 après 24h d'incubation à 37.	*77*
Figure V.3	le résultat E. coli type 2 après 24h d'incubation à 37.	*78*

Liste des tables

Partie I : ***Chapitre I:****Généralites sur Mespilus germanica L(Néflier)*		
Tableau I.1	Classification decronquist	*08*
Tableau I.2	Classification botanique fe Mespilus germanica L (Néflier)	*08*
Chapitre II :*Plan d'expérience et ces application*		
Tableau II.1	deux facteur à deux niveau	*20*
Tableau II.2	Matrice d'expérience et plan d'expérimentation	*24*
Tableau II.3	La matrice d'expériences	*27*
PartieII : ***Chapitre III:****Matériels et méthodes*		
Tableau III.1	la valeur codée des facteurs choisis pour l'extraction	*40*
Tableau III.2	les valeurs réelle des facteurs choisis pour l'extraction.	*41*
Tableau III.3	méthode de préparation d'extrait pure	*42*
Tableau III.4	l'extrait de plant obtenu.	*44*
Tableau III.5	méthode utilisé d'activité antibactérienne	*47*
Chapitre IV :*résultats et discussion*		
Tableau IV.1	les meilleurs valeurs de rendement.	*51*
Tableau IV.2	Représentation statistique discripives	*53*
Tableau IV.3	Représentation les valeurs de modalités et des effectifs et des effectifs cumulés	*53*

Tableau IV.4	Régression de la variable rendement de deux intéraction	*54*
Tableau IV.5	Coefficient d'ajustement de deux intéraction	*56*
Tableau IV.6	Représentation d'analyse de la régression du modèle	*56*
Tableau IV.7	Régression de la variable rendement de trois intéraction	*65*
Tableau IV.8	Coefficient d'ajustement de trois intéraction	*66*
Sous chapitre V :*Résultats et discussion d'activités antibactéeienne*		
Tableau V.1	Représentation les zones d'inhibition des souches bactériennes	*78*

Liste des schémas

Partie II *:*

Chapitre III : Matériel et méthode

Schéma III.1 : Schéma générale des différentes étapes du travail.

Schéma III.2 : schéma d'extraction ‘’macération’’

Liste des abréviations

CSP : Code de la santé publique

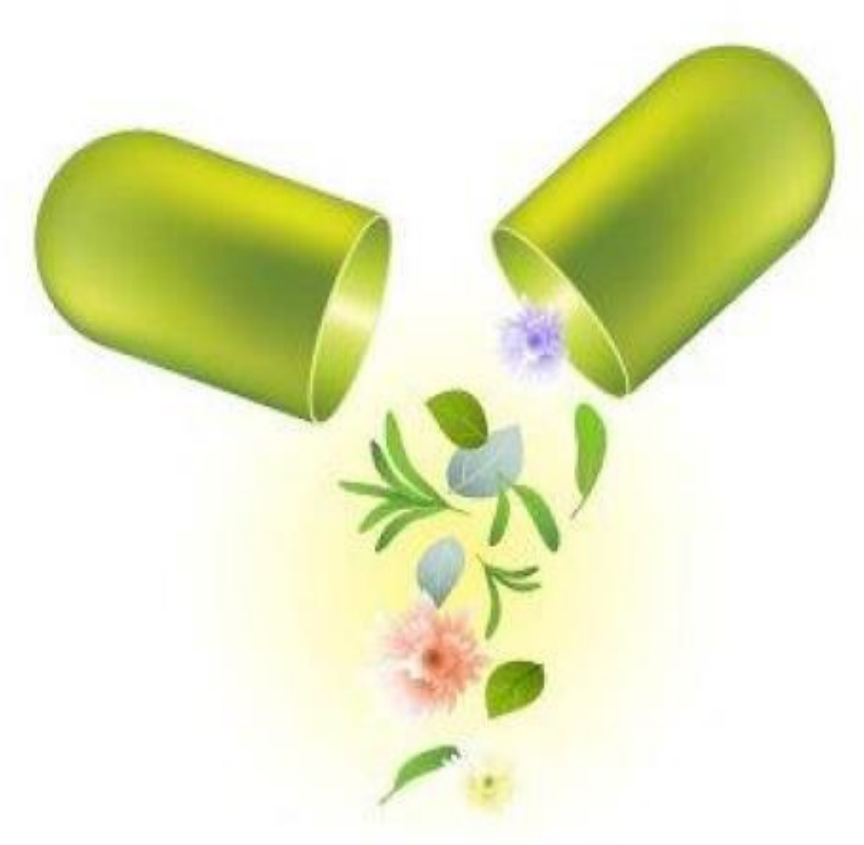
APG-III : Angiosperm Phylogeny Group

R^2 : coefficient de corrélation

R^2ajusté : coefficient de corrélation d’ajustement

VIF : variance inflation factor

DDL : Degré de liberté



Introduction Générale

Introduction :

Pendant longtemps, les remèdes naturels et surtout les plantes médicinales furent le principal recours de la médecine de nos grands-parents, malgré l'important développement del'industrie pharmaceutique qui a permis à la médecine moderne de traiter un grand nombre de maladies souvent mortelles, environ 80% de la population mondiale profite des apports de la médecine traditionnelle à base des plantes reconnaissant ainsi les savoirs empiriques de nos ancêtres (**EL Rhaffari et Zaid, 2004).**

L'Algérie est riche en plantes médicinales susceptibles d'être utilisées dans différents domaines (pharmacie, parfumerie, cosmétique, et agroalimentaire) pour leurs propriétés thérapeutiques et odorantes. Ces plantes médicinales sont, donc, la source de produits à forte valeur ajoutée. C'est pourquoi, nous nous somme intéressé à étudier cette plantes, a cause riche en métabolites.

Dans cette étude on à choisi la plante mespilus germanica L (Néflier) appartenant à la famille des Rocacea pour deux objectif : l'accés aux facteurs les plus influents et optimisez l'extraction des polyphénoles totaux . Cette plante est largement utilisée dans la médecine traditionnelle mais généralement pour le traitement des diahrées

Ce travail présente une étude bibliographique qui sera reparti en deux parties, initié par une revue bibliographique où nous apportons des information générales sur les plantes médicinale et la famille de rocacea étudiée. La deuxième partie présente un aperçu de la plante néflier *mespilus germanica L* ,discription botanique ,classification et l'utilisation de cette plante.

Dans Le deuxième chapitre est consacré à une modélisation paramétrique du processus d'extraction par l'optimisation des facteurs les plus influents sur l'extraction des polyphénol à travers l'application de la méthode des plans d'expériences (XSTAT ANOVA)

Pour la partie expérimentale ,une présentation du matériel et des méthodes utiles pour entreprendre le coté expérimentale de notre travail , nous avons décrit en détail le matériel végétal, et la méthode de protocole opératoire du procédé d'extraction de métabolites et enfin les résultats obtenus et de nos extraits sont discutés dans un dernier chapitre. Une conclusion générale vient à la fin pour récapituler tout ce qui ressort de ce travail .

Chapitre I



Généralités sur mespilus germanica L (néflier)

CHAPITRE I :Généralité sur la plante d'étude

I.1-Définition des plantes médicinales :

Il existe plusieurs définitions pour désigner un plante médicinale mais, pour faire simple, le terme désigne une plante ou une partie d'une plante possédant des substances appelées principes actifs, pouvent etre utlisés à des fins thérapeutques sans effets nocifs aux doses recommandées.

D'après la Xème édition de la Pharmacopée française, les plantes médicinales sont des drogues végétales au sens de la Pharmacopée européenne dont au moins une partie possèd des propriétés médicamenteuses".

La circulaire N°346 du code da la santé publique(CSP) du 2 juillet 1979 défint une plante médicinal comme ‘’une plante présentant des propriétés médicamenteuses sans avoir ni ne pouvant avoir aucun utilisation alimentaire condimentaire et hygiénique’’**(Jean-yves 2010).**

On peut distinguer deux types de mode de médcine qui est ultilisé les plantes médicinales comme des substance médicamenteuse : En premier lieu se trouve l'allopathie dans laquelle les plantes ont une action importante et immédiate. Beaucoup des plantes utilisées dans ce mode de traitement peuvent s'avérer toxiques. En effet deux tiers des médicaments sur le marché sont d'origine naturelle, principalement végétale **(Moreau .B 2003).** Puis on différencie les plantes dépourvues d'effet iatrogène mais ayant une activité faible. Elles sont utilisées en l'état ou dans des fractions réalisant le totum de la plante, soit la totalité des constituants **(Moreau .B 2003).**

La plante, organisme vivant, marque son identité par des spécificités morphologiques, à l'origine de la classification botanique, mais aussi biochimiques, liées à des voies de biosynthèses inédites, représentant l'intérêt de l'usage des plantes médicinales **(Bruneton .J 1987).**

I.1.1 -L'origine des plantes médicinales :

Elles porte sur deux origines à la fois. En premier lieu les plantes spontanées dites ''sauvages'' ou ''de cueillette '' , puis en second les plantes cultivées[4].

I.1.1.1 -Les plantes spontanées :

Beaucoup des plantes médicinales importantes se recontrent encore à l'état sauvage. Les plantes spontanées représentent encore aujourd'hui un pourcentage notable de marché, leur réoartition dépend du sol et surtout du biotope (humidité, vent, température et l'intensité de la lumière….est).

Dans certain cas certaines plantes se développent dans desconditions éloignées de leur habitat naturel (naturel ou introduit). Dans ce cas leur degré de développement en est modifié, ainsi que leur teneur en principes actifs **(Chabrier,2010).**

I.1.1.2 - Les plantes cultivées :

Pour l'approvisionnement de marché des plantes médicinales el la protection de la biodiversité floristique, le reboisement des plantes médicinales est indisponsable **(Ehlache .M et Zid Elkhir .L 2021) :**

I. 2. Présentation de la famille de rosacée :

La famille des Rosacées comprend des herbes (fraisier) des arbustes (rosier) et des arbres (pommier), elle est bien représentée dans les pays tempérés de l'hémisphère Nord.

Les feuilles peuvent être simples ou composées. Elles ont des stipules, petites excroissances en forme de feuille à la base du pétiole.

Les fleurs ont une organisation assez constante : ce sont des fleurs régulières, sur le type 5 , 5 sépales, 5 pétales **(March 2018).**

Le calice, la corolle et les nombreuses étamines sont réunis à leur base et forment une coupe plus ou moins creuse d'où se détache la partie libre de ces pièces.

Le pistil comprend des carpelles libres entre eux la plupart du temps.

Ils deviennent des fruits : akènes (fraisier), drupes (Cerise) ou follicules (reine des prés). Le réceptacle peut grossir et contribuer à la formation d'un fruit complexe (rosier: le cynorrhodon).

La classification de cette famille est basée sur la constitution du fruit **(March 2018).**

a) les fruits ne sont pas enveloppés dans la coupe florale :

- Tribu des Prunées : le fruit est une drupe (fruit charnu à un noyau).
- Prunus communis, l'Amandier.

Autres Prunus : Abricotier, Cerisier, Prunier, Pêcher.

P.spinosa, le Prunellier, P.laurocerasus, le Laurier-cerise.

- Tribu des Spirées, les fruits sont des follicules (fruit sec) Spiraea: la Reine des Prés qui pousse dans les prés humides.

Autres genres :

- Rubus : la Ronce , le Framboisier (les fruits sont des petites drupes accolées).
- Fragaria : le Fraisier (les fruits sont des petits akènes) **(March 2018).**

b) les fruits sont enveloppés dans la coupe florale :

- Les fleurs ont une corolle très petite ou absente, Agrimonia, Alchemilla, Poterium (la Pimprenelle)
- Les Roses : la coupe florale devient charnue et contient les fruits des akènes.
- Les Pyrées : la coupe charnue fusionne avec les carpelles Pommier, Poirier, Sorbier, Néflier, Aubépine, Cotoneaster **(March 2018).**



Figure I.1 : fleur Cerisier des oiseau



Figure I.2 : Fleur de Fraisier des bois





Figure I.3 : Fleur de néflier.

I.2.1- Généralités sur les rosacées :

Les *Rosaceae* sont des plantes à fleurs dicotylédones appartenant à l'ordre des Rosales, c'est même la famille type de cet ordre. Les Rosacées comprennent une belle diversité de plantes vivaces, herbacées (fraisier, agrimoine), arbustives (rosier, spirée, framboisier) ou arborées (merisier, sorbier). Elles sont d'une grande importance économique pour l'homme, indissociable de sa vie puisqu'elles sont l'une des principales sources de fruits, notamment en climat tempéré. En dehors des fruitiers, les Rosacées sont très appréciées dans les jardins, un grand nombre d'espèces et de variétés sont distribuées par l'horticulture (**Anonyme 01).**

La famille des *Rosaceae* est une dicotylédone dite évoluée. Cette famille est ancienne, existant depuis au moins le milieu de l'Éocène, monophylétique et séparée très tôt des autres familles de l'ordre des Rosales. Son succès évolutif lui a permis de

se diversifier grandement ensuite en son propre sein : une diversité reflétée par une discontinuité inter (**Anonyme 01).**

I.2.1.1-Caractères généraux des Rosacées :

Une grande famille, les Rosaceae, et 2 petites : les Chrysobalanaceae et les Neuradaceae. 122genres et 3370 espèces. La famille des Rosaceae est une famille universelle qu'on trouve dans les zones tempérées de l'hémisphère nord. L'ordre des Rosales a déjà évolué, mais il reste encore primitif. On y trouve des arbres, des arbustes, des arbrisseaux et des herbacées vivaces.

Quelques espèces sont annuelles. On trouve aussi quelques plantes grimpantes et des aquatiques (**Anonyme 02).**

I.2.1.2-Morphologie :

Feuilles de type simple, mais aussi composées, souvent avec des stipules à la base et souvent des glandes à la partie supérieure du pétiole. Les fleurs sont généralement régulières et bisexuées. On trouve parfois un calicule : ce sont les stipules des sépales qui se sont soudés. Corolle à 5 pièces et à très nombreuses étamines. Les étamines et parfois les styles sont remplacés par des pièces pétaloïdes dans pas mal d'espèces. Les étamines normales sont biloculaires à fente longitudinale. Le pollen est transporté par les insectes attirés par le disque nectarifère qui se trouve autour des carpelles, et dans le cas des *Rosaceae*, il y a des espèces à pollinisation anémophile. Carpelles nombreux (1 à 150) qui peuvent être soudés en Conceptacle (pomme) ou être au contraire très simples. Chaque carpelle contient généralement 2 ovules anatropes. Le conceptacle participe souvent à la formation du fruit qui est un fruit mixte (ni vraiment une baie, ni vraiment une drupe). Les graines sont pratiquement sans albumine (**Anonyme 02).**

I. 2.1.3-Classification decronquist (selon Julve et all en2014) **:**

Règene	Plantae
Sou-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rosales

Tableau I.1 : Classification decronquist **(Rahal.S et L 2019).**

I. 3. 1. 4. classificationAPG-III :

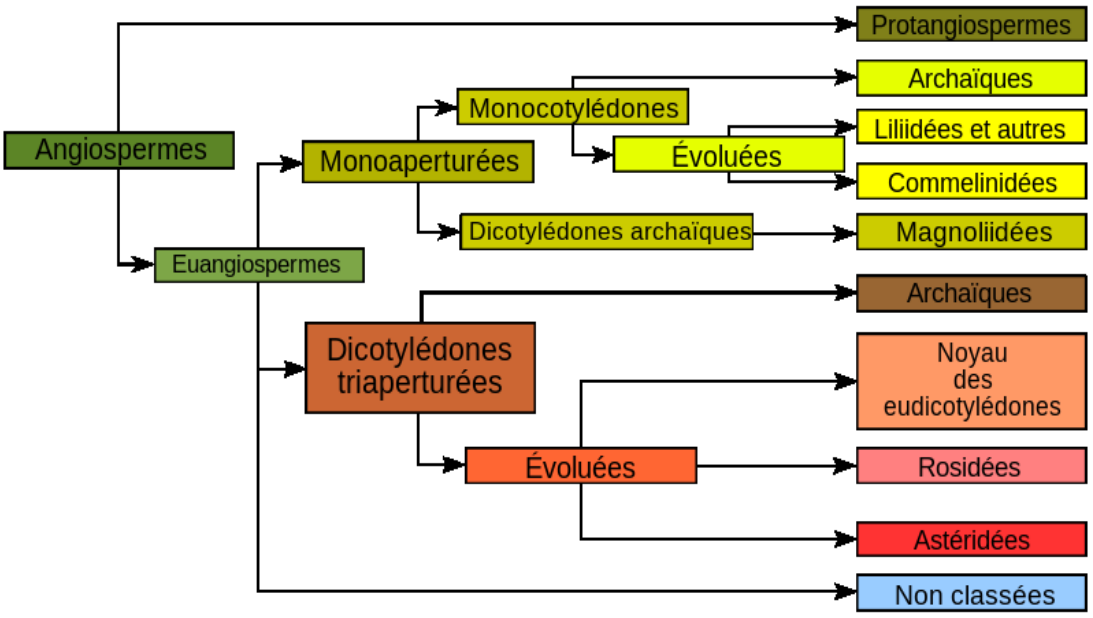


Figure N°04 : classificationAPG-III **(BE-1860).**

I.2.1.5-Sous-familles des rosacées :

- **Sous-famille des Amygdaloideae ou Prunoideae :** une dizaine de genres et 400 espèces, caractérisées par un carpelle unique qui produisent une drupe comme la cerise ou la prune : genres *Prunus* pruniers e (cerisiers, *Prinsepia, Cerasus, Amygdalus, Pygeum*….) (**Anonyme 03).**
- **Sous-famille des Maloideae :** contenant entre 20 et 28 genres et prés de 1000 espèces, caractérisées par leurs 5 carpelles soudés et un syncarpe (fruit soudé comme la pomme) : *Malus*, le pommier, *Pyrus*, le poirier, *Amelanchier, Cotoneaster, Sorbus* (sorbier), *Crataegus* (aubépine), *Pyrancantha, Photinia, Cydonia*… (**Anonyme 03).**

Sous-famille des Rosoideae : comprenant environ 35 genres et 1000 espèces d'arbustes ou plantes herbacées ; les fruits sont des akènes ou rarement des drupéoles : ex genres *Rosa* (200 espèces) de rosiers, *Rubus* (700 espèces, dont les mûres et les framboisiers), *Alchemilla*, *Sanguisorba* (pimprenelle), *Potentilla* (potentille), *Waldst einia, Geum, Agrimonia, Fragaria* (fraise)…

- **Sous-famille des Spiraeoideae :** 22 genres et 260 espèces d'arbustes et quelques plantes herbacées, à feuilles simples rarement composées. Genres *Aruncus* (barbe de bouc), *Exochorda, Spireae* (spirées), *Physocarpus, Sorbaria* (fausse spirée), *Stephanandra* (**Anonyme 03).**

I. 2.2- Description botanique :

Les Rosacées sont des plantes herbacées ou ligneuses (Figure N°5), à feuilles alternes, simples ou composées, stipulées (**Anonyme 04).**

Les fleurs régulières, à symétrie rayonnée et parfois réunies en inflorescences. Elles ont un receptacle élargi en forme de coupe et présentent parfois, sous le calice, on y trouve un calicule. Le calice, le plus souvent formé de 5 sépales est parfois soudé à l'ovaire. La corolle est en général formée de 5 pétales libres et entiers. Les étamines sont nombreuses, rarement en nombre déterminé et réduites à 1 ou 2: elles ont des filets libres et des petites anthères qui s'ouvrent par des fentes longitudinales. Presque toujours parfaites et 5-mères (pièces florales par multiple de 5) comptent généralement cinq sépales, cinq pétales, de nombreuses étamines (entre 10 et 20).

Calice, corolle et androcée concrescents à la base en un plateau ou un tube. Pistil composé de carpelles fermés en nombre très variable. La position de l'ovaire (supère ou infère, est formé de un ou plusieurs carpelles distincts ou diversement unis et portant un nombre indéterminé d'ovules (2 ou plus) (**Anonyme 04).**

La position de l'ovaire varie selon les espèces, mais le réceptacle floral est toujours creusé en hypanthe (ou hypanthium).

Fruits très divers: peut être un follicule, une drupe, un akène, un polyakène, une drupéole ou une pomme constituée du receptacle charnu, mais ce n'est jamais une gousse. Les graines sont petites .



Figure I.5 : Rosacées.

I.2.3. -Utilisations des rosacées :

Usage thérapeutique local : employé contre la débilité des vois digestives et les crampes d'estomac. Possédant des propriétés diurétiques la dartre **(M.D Maria 2013).**

I.3-Historique du *Mespilus germanica L* (Néflier) :

Eriobotrya est un nom grec formé de, ″erion″ et ″botrus″ qui signifie respectivement laine et grappe, ce genre comprend une trentaine d'arbustes ou arbres persistants, originaires d'Asie **(Et et al. 2015)** .

Depuis plus de 2000 années, la nèfle du Japon ou l'*Eriobotrya Japonica* Lindl a été cultivé au Japon **(En et al, 2016**) .

Par contre, son introduction en culture en Europe et en Amérique s'est faite dans les années 80. En France, c'est seulement vers 1831 qu'on commençait à considérer le nèfle comme arbre fruitier **(Et et al., 2015**), puis leur culture a été décrite dans divers pays comme l'Algérie, l'Egypte, la Grèce, Italie, Espagne, la Tunisie et la Turquie.

En Algérie, il était cultivé à l'arrivée des Français, mais il n'était représenté que par des formes de petits fruits et de qualité médiocre. Après les travaux, les nouvelles variétés sont à pulpe charnue et sans trop de pépins **(En et al. 2016**).

Le vrai nom arabe du néflier du Japon c'est : El Bachmalatetet d'autres appellations selon les régions ; Thouvrasth et Massebli en Kabylie, m'chim'cha à Alger, El-mollééce à Béchar et Oran, zââroura et bou-ââdima à Tlemcen et Zaarour à Constantine **(En et al. 2016).**

I.3.1- Généralité sur *Mespilus germanica L*(Néflier) *:*

Mespilus germanica L est une plante médicinale appartenant à la famille des rosacées, utilisée en médecine traditionnelle pour traiter plusieurs maladies, Le néflier fleurit à la fin de l'hiver et au printemps, leurs fleurs sont produites à l'automne sous forme des grappes parfumées avec une couleur blanche crémeuse , sont Durée de vie 40 ans, arbres adultes dès 5 à 6 ans, première fructification dès 3 à 4 ans.

I.3.2-L'étude botanique de *Mespilus germanica L*(Néflier):

I.3.2.1-L'Origine du Nom :

Son nom scientifique provient du latin *mespilum*, mot emprunté au grecmespilon ; ce mot serait formé des mots grecs mesos et pilos, balla, en réf érence à la forme hémisphérique du fruit (**Anonyme 05).**

I.3.2.2-Description botanique:

Le Néflier commun (*Mespilus germanica L*), parfois appelé Melier ou mesplier, est petit arbre fruitier (Figure 07) de la famille des rosacées(*Carataegeae*). (**Anonyme 06).**à feuilles persistantes subtropicale originaire de la Chine (**Anonyme 01).**C'est un arbre de 6 à 8 m de haut, s'étalant à l'âge adulte. Les jeunes rameaux et bourgeons sont cotonneux (Eriobotrya signifie "grappe de laine" en grec).

Les feuilles simples (Figure N°8), alternées, persistantes sont de grandes tailles, 20 à 25 cm de long et fortement nervurées. Elles sont assez coriaces et ont le bord du limbe denté. Leur face supérieure est vert foncé, luisante, tandis que leur face inférieure est roussâtre (**Anonyme 06).**

Les fleurs blanches sont réunies en grappes, chose très inhabituelle parmi les arbres fruitiers, les fleurs du néflier s'épanouissent en automne ou au début de l'hiver et les fruits atteignent leur maturité durant l'hiver ou au début du printemps.

Les fruits ovoïdes, de couleur jaune orange, sont des baies blanches jaunâtre goût acidulé, très juteuses. Ils portent au sommet les cinq dents persistantes du calice. Les pépins, brun noir, sont d'assez grosse taille **(figure n° 06) (Orwa .C et al 2009).**



Figure I.6 : fruite de néflier.



figure I.7: arbre de néflier.



Figure I.8 : les feuillede néflier.

I. 3.2.3-Classification botanique :

Mespilus germanica L (Néflier) appartient a la famille de Rosacée classification classique ou decronquist selon ‘’Linné’’ **(Baala .O et Marmoul .A 2021).**

Classification botanique de *Mespilus germanica L* (Néflier)	
Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Rosales
Famille	Rosaceae
Genre	Eriobotrya
Espèce	Eriobotrya japonica
Noms vernaculaires	Bibassier, bibacier ou néflier du japon (français) Loquat (anglais), biwa (japonais),

Tableau n°02: Classification botanique de *Mespilus germanica L* (Néflier) .

I. 3. 3 -Composants chimique de feuilles :

Les feuilles de cette plante contiennent des composés biologiquement actifs comme:

Les polyphénols (tanins, flavonoïdes), les triterpènes, sesquiterpènes et les glycosides de Megastigmane **(Jin et al. 2011 ; Al shaker et al. 2011**)

I. 3.3.1 -Phénols :

Ce sont des composés organiques possédant au moins une fonction carboxylique et un hydroxyle phénolique, ce sont des dérivés de l’acide benzoïque et l’acide cinnamique **(Djahra 2015).** Il existe une très grande variété de phénols, de composés simples comme l’acide salicylique à Des substances plus complexes comme les composés phénoliques rattachés aux glucosides.

Les phénols sont anti-inflammatoires et antiseptiques. Les acides phénoliques son fortement antioxydants, anti-inflammatoires et peuvent avoir des propriétés antivirales **(Louffar .I et Mahdjoub .S 2016).**

I.3.3.2 -Tanins :

Toutes les plantes contiennent des tanins à un degré plus ou moins élevé .Ceux-ci donnent un goût amer à l'écorce ou aux. Les tanins sont des composants polyphénoliques qui contractent les tissus en liant les protéines et en les précipitant, d'où leur emploi pour tanner les peaux. Ils permettent de stopper les hémorragies et de lutter contre les infections .Les plantes riches en tanins sont utilisées pour retendre les tissus souples, pour drainer les sécrétions excessives, comme dans la diarrhée, et pour réparer les tissus endommagés par un eczéma ou une brûlure **(Louffar .I et Mahdjoub .S 2016).**

I. 3.3.3 -Flavonoïdes :

Les flavonoïdes, présents dans la plupart des plantes, sont des pigments polyphénoliques qui contribuent, entre autres, à colorer les fleurs et les fruits en jaune ou en blanc. Ils sont impliqués chez les plantes dans le transport d'électrons lors de la Photosynthèse. Ils jouent un rôle de protection contre les effets néfastes des rayons UV en agissant comme antioxydant. Ils parviennent à capturer les espèces réactives de l'oxygène associées au stress oxydatif, les empêchant ainsi de créer des dommages cellulaires **(Djahra 2015).**

Ils ont un important champ d'action et possèdent de nombreuses vertus médicinales :

Des activités antivirales ; antispasmodiques ; anti tumorales ; anti agrégation plaquettaires ; antiallergiques ; anti-inflammatoires et antimicrobiennes. Certains flavonoïdes ont un effet préventif sur le cancer du sein, de la prostate et l'ostéoporose **(Louffar .I et Mahdjoub .S 2016).**.

I. 3.3.4 -Triterpènes :

Les feuilles de cette plante contiennent de nombreux triterpènes **(Tamiguchi et al. 2002**). Comme l'acide corosolique (CA), l'acide maslinique (MA) l'acide ursolique (UA), l'acide oléanolique (OA) et autre composé comme l'acide tormentique (TA) **(Er-Na et al. 2009 ; Hui-ya et al. 2010) (Ayouni & Adrar, 2017)**

I.3.4 - Utilisation et propriétés thérapeutique du néflier :

En générale, les feuillets des plantes *''Mespilus germanica L* (Néflier) ''sont de nombreuses composées phénoliques et triterpéniques, ces composants ont des propriétés hypoglycémiantes, antioxydantes, effet aussi diurétique, anti-lithiasique et anti-entérite.

I.3.4.1 -Activité antioxydant :

Le néflier contient des quantités importantes de métabolites végétaux secondaires, notamment des caroténoïdes, des flavonols, des anthocyanes et des procyanidines. Ces composés alimentaires mineurs ont été postulés pour jouer un rôle clé chez l'homme en tant qu'antioxydants, en empêchant les réactions produites par les espèces réactives à l'oxygène et à l'azote au cours de la progression de différentes pathologies **(Baala . O et Mermoul .A 2021).**

Le néflier du Japon a d'autres propriétés biologiques tels que ;

- La diminution du taux de cholestérol.
- Le renforcement des os.
- Une forte activité anti-inflammatoire.

I.3.4.2 -Activité anti-inflammatoire :

Les propriétés anti-inflammatoires des composés phénoliques peuvent être dues à leurs capacités d'inhiber des enzymes impliquées dans les processus inflammatoires. Les flavonoïdes possèdent des propriétés anti-inflammatoires qui on tété étudiées pour établir et caractériser leur utilisation potentielle comme agentes thérapeutiques pour les maladies inflammatoires. Les flavonoïdes sont des régulateurs de l'expression des gènes pro-inflammatoire. Ils exercent leur fonction en modifiant la synthèse des eicosanoïdes (médiateurs inflammatoires) et en réduisant le rapport leucotréine / prostacycline en diminuant l'activité de la lipoxygénase. Le trans-resvératrol a des effets similaires**.** Certains flavonoïdes contenus dans les flavonols dans les aliments peuvent empêcher l'expression d'enzymes sur la paroi, comme L'expression de métallo protéinases et d'autres protéines inflammatoires causées par des facteurs inflammatoires **(Moussous .Me 2020).**

I.3.4.3 -Activité antimicrobienne :

Dès la naissance, l'homme se trouve en contact avec des micro-organismes qui vont progressivement coloniser son revêtement cutanéo-muqueux. Pour résister à ces microorganismes de nombreux moyens sont mis en jeu. On peut schématiquement en distinguer 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle (ou innés) et l'immunité acquise **(Rahal S et L 2019).**

La thérapeutique des infections bactériennes se base principalement sur l'usage des antibiotiques. La prescription à grande échelle et parfois inappropriée de ces agents peut entraîner la sélection de souches multi-résistantes, d'où l'importance d'orienter les recherches vers la découverte de nouvelles voies qui constituent une source d'inspiration de nouveaux médicaments à base des plantes.

Les polyphénols notamment les flavonoïdes et les tannins sont reconnus par leur toxicité vis-à-vis des microorganismes. Le mécanisme de toxicité peut être lié à l'inhibition des enzymes hydrolytiques (les protéases et les carbohydrolases) ou d'autres interactions pour inactiver les adhesines microbiennes, les protéines de transport et d'enveloppe cellulaire **(Rahal S et L 2019).**

Chapitre II :



Plan d'expériences et ces application

II.1-Introduction :

Un plan d'expérience constitue une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manières efficaces et économique. La méthodologie des plans d'expériences est basée sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats**(BELKADI etMAKKED.2016).**

II.2-Principe de base des plans d'expériences :

La technique des plans d'expériences consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs (qui sont les variables, discrètes ou continues) à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse, c'est-à-dire une grandeur utilisée comme critère et en permettant de modéliser facilement les résultats. Le point délicat dans l'utilisation des plans d'expériences sera donc de minimiser le plus possible le nombre d'expériences à mener sans sacrifier la précision des résultats **(Chahine B,2009).**

II.3 -Notion de plan d'expérience :

- Le scientifique est souvent amené à comprendre comment réagit un système en fonction des facteurs susceptibles de le modifier. Pour visualiser cette évolution, il mesure une réponse et va ensuite essayer d'établir des relations de cause à effet entre les réponses et les facteurs (**Ayad M et Barka ,2013)**

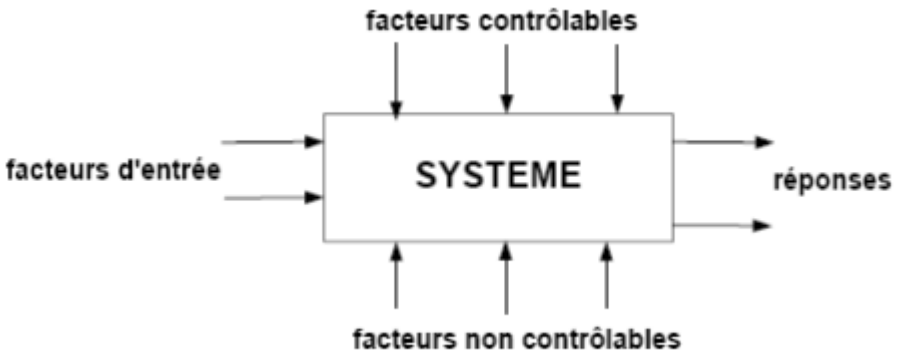


Figure II.1 : schématisation d'un dispositif expérimental

❖ Ces plans d'expériences ont un vocabulaire et une terminologie qu'il est nécessaire de définir :

II .3.1-Les facteurs :

Parmi les facteurs on distinguera(**Ayad M et Barka ,2013) :**

- **les facteurs contrôlables** :qui dépendent directement du choix (température ,matériau..)
- **les facteurs non contrôlables :** qui varient indépendamment du choix (conditions climatiques, environnement d'utilisation...)
- **les facteurs d'entrée :** dont on cherche à analyser une influence (matière première, vitesse d'agitation, température,...) Les facteurs étudiés dans un plan d'expériences sont bien entendu les facteurs d'entrée.

Ils existent deux types :

- **Facteur quantitatifs :** Facteurs dont la valeur est mesurable, souvent à variation continue .
- **Facteurs qualitatifs :** Facteurs dont la valeur est non mesurable (la qualité, le type de matériau ,couleur) ou d'autre caractéristique qu'on ne peut quantifier [, Les états choisis dans l'expérimentation sont appelés les modalités, on dit aussi les niveaux du facteur étudié.

Dans un même plan expérimental, on peut étudier simultanément des facteurs quantitatifs et qualitatifs. Un facteur varie entre deux bornes :

- ✓ **la borne inférieure :** (niveau bas que l'on note –1 (variable sans dimension)),
- ✓ **la borne supérieure :** (niveau haut que l'on représente généralement par +1).

L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut s'appelle **le domaine** de variation du **facteur**. Un facteur peut prendre plusieurs niveaux à l'intérieur de son **domaine** de **variation**. Les différents éléments individuels qui constituent un même facteur sont appelés modalités **(BENHADJI K,2016).**

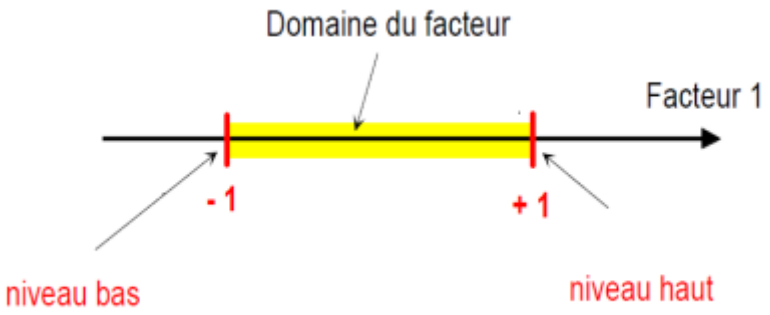


Figure II.2: Domaine de variation d'un facteur

II.3.2-Variable centrées réduites ou codées :

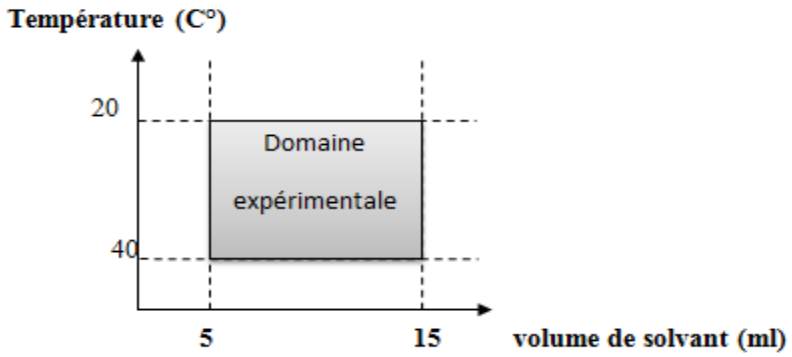
L'utilisation des variables centrées réduites présente l'intérêt de pouvoir généraliser la théorie des plans d'expériences quelque soient les facteurs ou les domaines d'études retenus. Remplacer les variables naturelles par les variables codées va permettre d'avoir pour chaque facteur le même domaine de variation (entre -1 et +1) et de pouvoir ainsi comparer entre eux l'effet des facteurs. Le niveau bas est ainsi codé (- 1) alors que le niveau haut est codé

(+ 1)**(Ayad M et Barka ,2013)**.

Par exemple :

Tableau II.1 : deux facteur à deux niveau

Facteur	Niveau(-1)	Niveau(+1)
Température (c°)	20	40
Volume de solvant(ml)	5	15



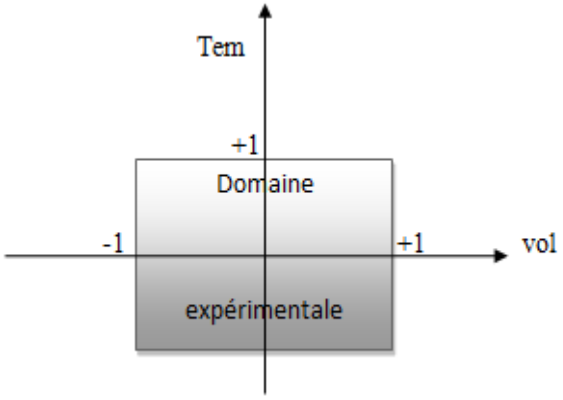


Figure II.3: transformation des coordonnées réelles en coordonnées centrées réduites

Pour le passage des valeurs réelles aux valeurs centrées réduites dans le cas des facteurs ayant plus de deux niveaux nous avons (**BOUDAOUD. Z, RAHMOUNI. Z, BREYSSE. D.2003).**

$$a = \frac{2*B-(B^{+}+B^{-})}{(B^{+}-B^{-})} \quad \text{.....(II.1)}$$

Où :

a: Niveau du facteur en valeur centré réduite.

B: Niveau du facteur en valeur réelle.

B^{+}: Niveau supérieur du facteur en valeur réelle.

B^{-} : Niveau inférieur du facteur en valeur réelle.

II .3.3-Réponse :

On qualifie de réponse la grandeur qui est observée pour chaque expérience réalisée (**TINSSON W,2010)**.En d'autres termes, c'est le résultat mesuré lors de l'essai . Sachant qu'à chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. L'ensemble de ces dernières, forme la surface de réponse. La valeur d'une réponse ne peut être modifiée que de manière indirecte en faisant varier les facteurs(**BOUDISSA F ,2011)**.

II.3.4-Domaine expérimentale :

Le regroupement des domaines des facteurs définit le « domaine d'étude ». Ce domaine d'étude est la zone de l'espace expérimental choisie par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire plusieurs expériences bien définies, est représentée par des points répartis dans le domaine d'étude (**Jacques GOUPY**)

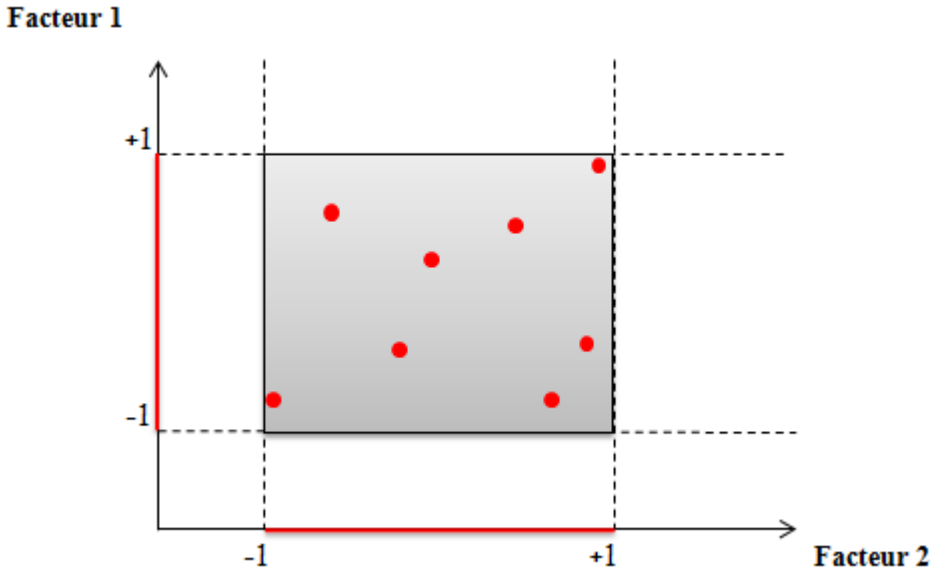


Figure II.4:Les points expérimentaux sont disposés dans le domaine d'étudedéfini par l'expérimentateur **(Amirouche L., 2011)**

II .3.5-Surfaces de réponse:

À chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. À l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisesur une surface appelée surface de réponse (**Groupy,J.2006)**

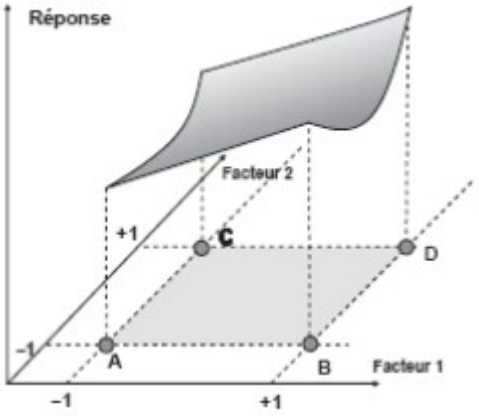


Figure II.5: L'ensemble des réponses qui correspond à tous les points du domaine d'étudeforme la surface de réponse**(Groupy,J.2006)**

En général, on ne connaît que quelques réponses, celles qui correspondent aux points expérimentaux retenus par l'expérimentateur. On interpole à l'aide d'un modèle mathématique, les réponses inconnues pour obtenir la surface de réponse.

Les points d'expériences retenus par la théorie des plans d'expériences assurent la meilleure précision possible sur la forme et la position de la surface de réponse

II .3.6-Effet d'un facteur :

L'effet d'un facteur [**Xi**]correspond à la variation de la réponse **[Y]** lorsque **X** passe d'un valeur au niveau **(-1)**à une autre valeur au niveau **(+1).**Il est caractérisé par une constante notée **(Ai)** qui sera (**BARON J., OLLIVIER J.P. (1996))**

- ✓ **Positive** :si cette variation du facteur est favorable à l'accroissement de la réponse .
- ✓ **Négative** :si elle est favorable à la diminution de la valeur de la réponse
- ✓ **Nulle** :si elle est sans influence sur le système .

Cette constante intervient dans le modèle mathématique décrivant cette réponse :

$$Y = A_o + \sum_{i=1}^{k} Ai\ Xi \quad \text{.....(II.2)}$$

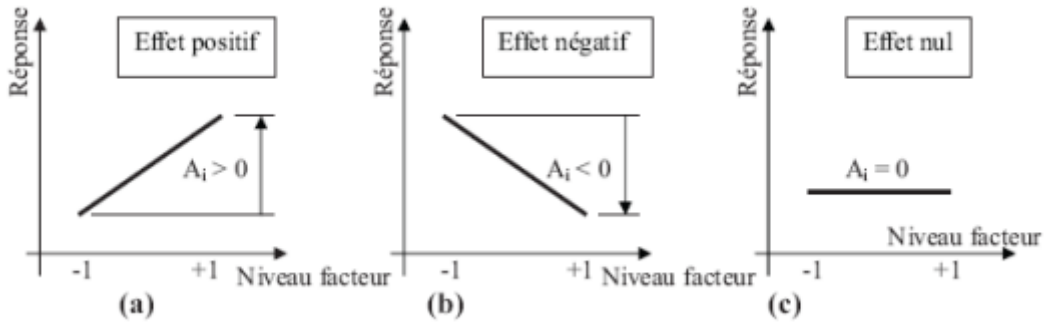
Y :Réponse prédite par le modèle

$\mathbf{A_o}$:constante du modèle elle répond à la moyenne des résultats de mesure .

Xi :Facteur i.

Ai :effet du facteur i

K :Nombre de facteur étudiés



FigureII.6 :Illustration d'un effet d'un facteur

II.3.7 :Matrice d'expérience :

La matrice d'expérience est un objet mathématique qui représente, sous forme codée ou non codée, l'ensemble des expériences à réaliser .C'est un tableau consistué de **n** ligne correspondant aux **n** expérience à réaliser et de **k** colonnes,correspondant aux **k** variables etudiées.Nous allons illustrer ci-dessous la notion de matrice expérience avec un exemple simple (**Groupy,J.1999)**

Prenons 2 Facteur U_1 et U_2 .U_1 est un facteur quantitatif qui peut prendre par exemple deux niveaux : A_1=100 et A_2=50 ;U_2 est un facteur qualitatif à deux modalités : B_1= bleu et B_2 = rouge .supposons que la matrice d'expériences choisie soit celle reportée dans le tableau ci-dessous :

Tableaux II.2 :Matrice d'expérience et plan d'expérimentation (**Benoist,D.Tourbier,Y.Germain-tourbier,S.1994**)

	Matrice d'expérience		
Nombre d'essai	U_1	U_2	Y
1	A_1	B_2	Y_1
2	A_2	B_2	Y_2
3	A_1	B_1	Y_3
4	A_2	B_1	Y_4

	Plan d'expérimentation		
Nombre d'essai	X_1	X_2	Y
1	100	Rouge	Y_1
2	50	Rouge	Y_2
3	100	Bleu	Y_3
4	50	Bleu	Y_4

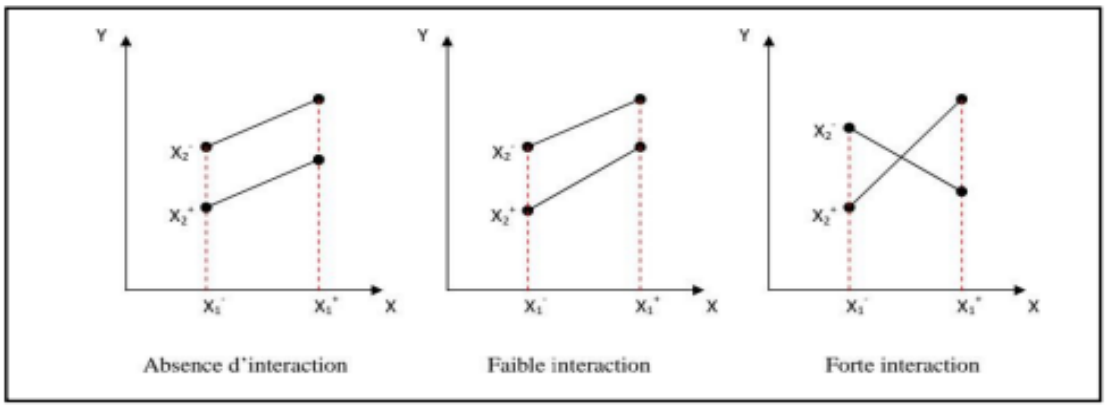
II .3.8-Intéraction :

L'effet pour lequel l'influence apparente d'un facteur sur une variable de réponse dépend d'un ou de plusieurs facteurs.l'intéraction indique une incohérence de l'effet principal d'un facteur sur la réponse selon le niveau d'un autre facteur(**Karam,S.2004)**

Noté Aij l'intéraction intervient dans le modèle de la maniére suivante :

$$Y = A_o + \sum_{i=1}^{k} Ai\ Xi + \sum_{i=1}^{k} Aij\ Xi\ Xj \quad \text{.....(II.3)}$$

Aij :Effet de l'intéraction XiXj



FigureII.7 :illustration d'une intéraction

II.4 -Conditions d'application des plans d'expériences :

Les plans d'expériences sont un instrument bien adapté à la recherche à chaque fois qu'intervient un grand nombre de paramètres. Ils permettent de réduire fortement le nombre d'essais, de gagner du temps et de l'argent, tout en parvenant à un meilleur résultat. Leurs applications s'imposent chaque fois que l'on veut concilier au mieux de nombreuses exigences différentes.

Trois éléments sont indispensables pour réussir cette démarche : la planification des essais et la qualité de l'expérience, ensuite, la maîtrise d'outils mathématiques tels que la régression linéaire multiple, enfin, l'apport des statistiques pour la validation globale des modèles et la détermination des effets significatifs.

Pour appliquer la méthode des plans d'expériences et, en particulier, les méthodes S'appuyant sur les régressions linéaires multiples, il faut que les deux conditions suivantes soient réalisées (**SIER. (1993))**

- **Condition 1** :

La valeur que prend chaque variable doit être connue sans erreur, or dans un travail d'expérimentation on ne peut nier la présence d'erreur. Donc pour satisfaire cette condition on doit s'assurer que l'erreur induite sur la valeur de la variable soit très petite, voire négligeable devant la variation de cette même variable lorsqu'elle change de valeur.

- **Condition 2** :

La réponse doit être homoscédastique. Cela signifie que l'erreur de mesure doit être la même sur tout le domaine expérimental. Pour cela il appartient à l'expérimentateur de garder les mêmes gestes, le même matériel et la même cadence lors de toute la compagne d'expérimentation.

II.5 -Types des plans d'expériences :

Il existe de nombreux plans d'expériences classiques adaptés à tous les cas rencontrés par un expérimentateur, les plus utilisés sont (**G. Sadou, M. C.Sadou ,1991)(J. Goupy,2006) :**

- plans de modélisation ou plans pour surfaces de réponse : modèles du 1er ou 2éme degré .
- plans de mélange : adaptés aux facteurs dépendants .
- plans factoriels complets : toutes les combinaisons des niveaux de facteurs sont présentes .
- plans factoriels fractionnaires : tous les niveaux de chaque facteur sont présents, mais pas toutes les combinaisons possibles de facteurs.

❖ **Modélisation mathématique** :

La modélisation mathématique est l'objet du programme expérimental.. Elle permet, une fois les facteurs influence identifiés, de trouver l'équation ou la fonction qui décrit le mieux l'évolution du phénomène étudié en fonction de ces facteurs.

II.5.1-Plan d'expérience pour modèles d'ordre un :

Le modèle mathématique du premier ordre associé à un plan factoriel complet à deux niveaux avec k facteurs et interactions doubles s'écrit(**Oughlis-Hammache F,2006)**

$$y = \beta_o + \sum_{i=1}^{K} \beta i\, xi + \sum_{i \neq j}^{K} \beta ij\, xi\, x\, j + \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots (II.4)$$

$\boldsymbol{y}$:est la grandeur à laquelle s'intéresse l'expérimentateur,

$\boldsymbol{xi}$ **:** représente le ième facteur,

$\boldsymbol{xixj}$: représente l'interaction d'ordre 1 entre les deux facteurs xi et xj,

$\boldsymbol{\beta_o}$:est le terme constant de l'équation,

$\boldsymbol{\beta i}$et $\boldsymbol{\beta ij}$: sont respectivement, les effets linéaires et d'interactions

II.5.2-Plan d'expérience pour modèles à effets d'interactions (plan factoriels complet) :

Ces plans possèdent un nombre de niveaux limité à deux pour chaque facteur. Toutes les combinaisons de niveaux sont effectuées au cours de l'expérimentation. Ces plans peuvent être utilisés indistinctement pour les variables continus et pour les variables discrètes.

II.5.2.1- Plans à deux facteurs :

Pour deux facteurs, le domaine d'étude est un carré Le modèle mathématique postulé est un modèle du premier degré par rapport à chaque facteur **(Ayad M, Barka Y,2013)**

$$y=\beta_o+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\beta_{12}x_1x_2+e \quad \text{.....(II.5)}$$

Y: est la réponse

$x_1.x_2$: représente le niveau attribué au facteur 1,2

β_o : est la valeur de la réponse au centre du domaine d'étude

β_1: est l'effet (ou effet principal) du facteur 1

β_2 : est l'effet (ou effet principal) du facteur 2

β_{12} : est l'interaction entre les facteurs1 et 2

e : est l'écart.

La matrice d'expériences se construit selon le tableau suivant pour le cas des plans 2^2 et avec des facteurs **β_1**, **β_2**.

Tableau II.3: La matrice d'expériences

N^0essai	B_1	B_2
1	-1	-1
2	1	-1
3	-1	1
4	1	1

II.5.2.2-Plans factoriels à k facteurs :

On peut augmenter le nombre de facteurs. L'espace expérimental possède autant de dimensions qu'il y a de facteurs et le modèle mathématique correspond à la relation**(Ayad M,Barka Y,2013)**

$$y=\beta 0+\sum \beta ixj \ +\sum \beta ijxixj \ +\ldots+\sum \beta ijx^2+\beta ij \ \ldots z\ x_i\ x_j \ldots\ x_z+e \quad \text{.....(II.6)}$$

Un plan comportant k facteurs à deux niveaux est noté 2^K..

Le **k** en exposant signifie qu'il y a k facteurs étudiés.

Le **2** indique le nombre de niveaux par facteur

Plus généralement, la matrice d'expériences comporte k colonnes pour les facteurs principaux et $\mathbf{2^K}$ lignes soit $\mathbf{2^K}$ essais. Elle se construit selon la règle suivante:

- ✓ colonne du 1er facteur: alternance de -1 et +1
- ✓ colonne du 2eme facteur: alternance de -1 et +1 de 2 en 2

- ✓ colonne du 3eme facteur: alternance de -1 et +1 de 4 en 4
- ✓ colonne du 4eme facteur: alternance de -1 et +1 de 8 en 8

Et ainsi de suite pour un nombre plus élevé de facteurs.

II.5.2.3-Plans factoriels complets à trois niveaux :

S'il y a deux facteurs prenant chacun trois niveaux, il faut exécuter 9 essais. On note ce plan **3^2.** S'il y a trois facteurs prenant chacun trois niveaux (plan 3^3), il faut exécuter 27 essais. En général s'il y a **k** facteurs prenant chacun trois niveaux, il faut exécuter **3^K** essais. Ce qui commence à faire beaucoup. C'est la raison pour laquelle il existe aussi les plans fractionnaires correspondants qui portent le nom de carrés latins**(Ayad M,Barka Y,2013)**

II.5.3 -Plan d'expérience pour surface de réponse :

Les plans examinés précédemment n'avaient que deux niveaux d'étude par facteur et les modèles mathématiques utilisés étaient du premier degré (avec ou sans interactions) par rapport à chaque facteur. Ces plans sont les plus employés car ils permettent le criblage des facteurs et conduisent parfois à des modélisations simples mais suffisantes. Pourtant, il existe de nombreux cas où il est nécessaire d'avoir une bonne modélisation des phénomènes étudiés et où il faut passer à des modèles mathématiques du second degré. On fait alors appel aux plans pour surfaces de réponse. Ces plans utilisent des modèles polynomiaux du second degré. Nous étudierons les trois plus importants plans de ce type : les plans composites, les plans de Box-Behnken et les plans de Doehlert**(Bouchra WAHADAME.2006)**

Le modèle mathématique postulé utilisé avec les plans pour surfaces de réponse est un modèle du second degré avec interactions d'ordre 2 :

- Pour deux facteurs :

$$Y = a_o + a_{12}x_1 + a_2x_2 + a_{12}x_1x_2 + a_{11}{x_1}^2 + a_{22}{x_2}^2 + e \quad \text{.....(II.7)}$$

- Pour trois facteurs :

$$Y = a_o + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_{12}x_{12} + a_{13}x_1x_3 + a_{23}x_2x_3 + a_{11}x_{11} + a_{22}x_{22} + a_{33}{x_3}^2 + e \quad \text{.....(II.8)}$$

Ce type de modèle permet l'estimation d'une surface de réponse pour étudier les effets linéaires, les effets quadratiques et les effets d'interaction.

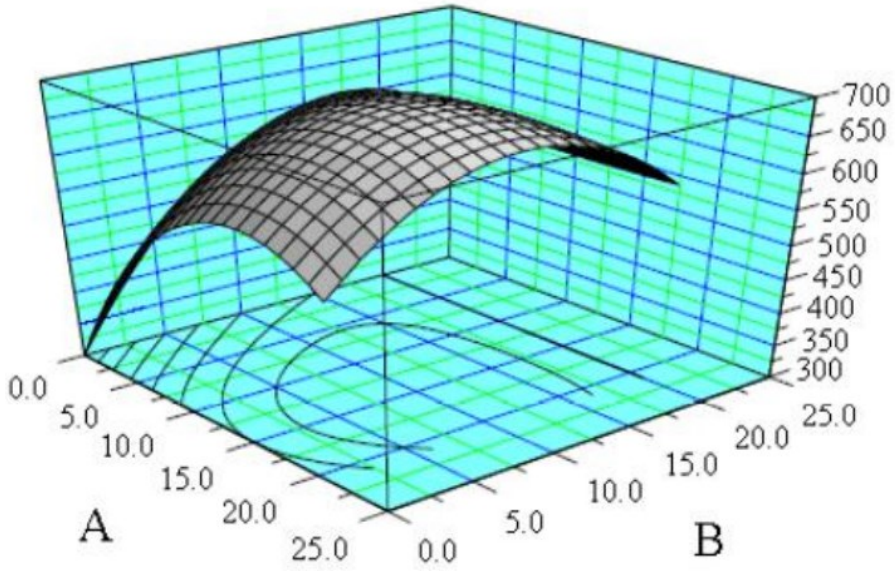


Figure II.8 : surface de réponse.

Il existe plusieurs types de plans du second ordre et le plus employée sont :

- ✓ Les plans composites centrés
- ✓ Plan de box-behnken

II.5.3.1 - Les Plans composites centré :

Les plans composites se prêtent bien au déroulement séquentiel d'une étude. La première partie de l'étude est un plan factoriel complet ou fractionnaire complété par des points au centre pour vérifier la validité du modèle . Si les tests de validation sont positifs (la réponse mesurée au centre du domaine est statistiquement égale à la réponse calculée au même point), l'étude s'achève le plus souvent, mais s'ils sont négatifs, on entreprend des essais supplémentaires pour établir un modèle du second degré (**Redhouane LOMBARKIA.2012)**.Les essais supplémentaires sont représentés par des points d'expériences situés sur les axes de coordonnées et par de nouveaux points centraux. Les points situés sur les axes de coordonnées sont appelés les points en étoile. Les plans composites présentent donc trois parties :

- ✓ **Le plan factoriel (n_f) :** c'est un plan factoriel complet ou fractionnaire à deux niveaux

par facteurs. Les points expérimentaux sont aux sommets du domaine d'étude.

- ✓ **Le plan en étoile ($n\alpha$):** les points du plan en étoile sont sur les axes et ils sont, en général, tous situés à la même distance du centre du domaine d'étude.

- Les points au **centre (n_0)** du domaine d'étude, on prévoit toujours des points expérimentaux situés au centre du domaine d'étude, et cela aussi bien pour les plans factoriels que pour les plans en étoile.

Le nombre total **n** d'essais à réaliser est la somme des essais du plan factoriel **(n_F)**c'est le cercle de couleur noire , des essais du plan en étoile **($n\alpha$)** c'est le cercle de couleur gris et des essais au centre **(n_o)**en blanc **.** Le nombre n des essais d'un plan composite est donné par la relation

$n = n_F + n\alpha + n_o$.....(II.9)

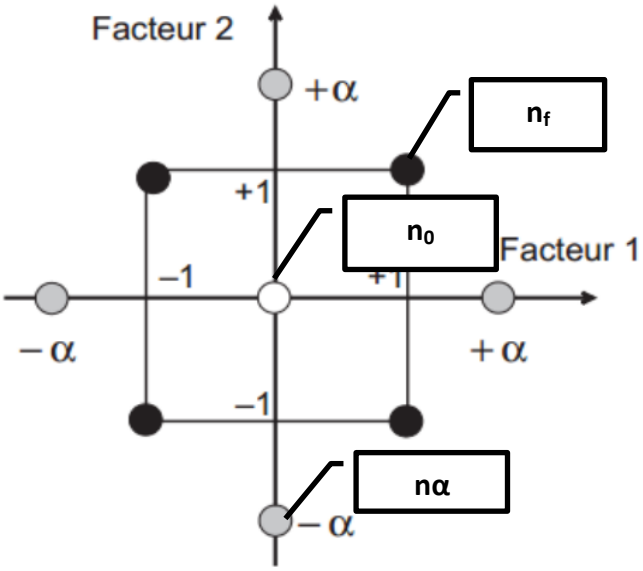


Figure II.9 : plan composite centré.

❖ On utiliser un plan composite centré pour effectuer les opérations suivantes :

✓ Estimes efficacement les termes 1 et 2

✓ Modéliser une variable de réponse avec courbure en ajoutant des points centraux et axiaux à un plan factoriel précédemment exécuté.

II.5.3.2. Les plans de Box-Behnken :

Les plans de Box-Behnken sont de mise en œuvre facile car tous les facteurs ne prennent que trois niveaux : - 1, 0 et + 1, en variables codées. Les points expérimentaux sont au milieu des arêtes de chacun des côtés du cube (figure III-7). Ce plan comporte douze essais auxquels on peut ajouter un (ou plusieurs) point central (**Redhouane LOMBARKIA.2012)**.Les plans de Box-Behneken répondent à un critère d'optimisation

particulier. Nous l' avons utilisé parce qu'il nous a donné le moins d'expérience par rapport les autres plans

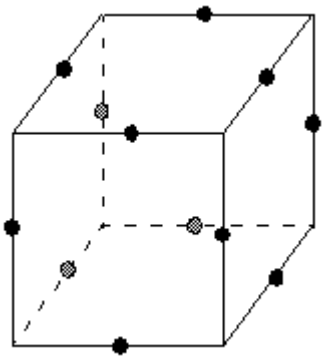


Figure II.10 : plan de box-behnekn

II.6- Analyse statistique par analyse de la variance :

L'analyse de variance (ANOVA OU ANALYSE OF VARIANCE) est un outil essentiel permet de comparer les variance des valeur calculées par le modèle et les résidus .Le principe de l'analyse de la variance est basé sur le calcul de l'écart totale entre les différentes mesures des réponses du plan d'expériences et la moyenne de ces mesures (**H.Angellier ,2005)**.Dans le cas des réponses calculées ,nous pouvons aussi parler de modèle corrigé de la moyenne .

Dans le cadre de la méthode des moindre carrés , la moyenne des réponses mesurées est égale à la moyenne des réponses calculées avec le modèle postulé .la valeur minimale de la variance des écarts qui est généralement adoptée comme étalon de comparaison pour évaluer l'importance d'un coefficient .la variance des coefficients qui sert d'étalon pour tester si un coefficient est significatif ou non .

Les logiciels des plans d'expériences sont aussi programmés pour calculer des réponses dans tous les domaines d'études , pour effectuer les analyses de variance , pour tracer des courbes d'iso réponses ,pour construire les surfaces de réponses et pour déterminer les zones d'intérêt cet ensemble de possibilités permet d'effectuer de multiples analyses et de regarder ces données sous tous les angles .On arrive ainsi à extraire ,en peu de temps ,toute l'information présente dans les résultats d'un plan d'expériences (**Goupy.,2006)**

II.7-Les concepts statistiques appliquées aux plans d'expériences :

a. Erreur expérimentale :

En général, Les quatre points au centre ont des valeurs différentes. Au lieu de donner la liste des quatre valeurs, on peut essayer de la résumer en indiquant la valeur

centrale et la dispersion autour de cette valeur centrale. En général, on prend la moyenne arithmétique comme valeur centrale et l'écart-type comme mesure de la dispersion (**Ayad M,Barka Y,2013)**

b. Moyenne :

Par définition, la moyenne arithmétique d'un ensemble de valeurs est la somme de toutes les valeurs divisées par le nombre de valeurs **(Antoine ayache & julien Harmonier)**

- Elle noté par X et elle définie de la manier suivante :

$$X = \frac{x1+x2+\cdots+xN}{N} = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N} x_{\text{i}} \text{.....(II.10)}$$

c. Ecart- type

La définition de l'écart-type est un peu moins simple que celle de la moyenne. Nous allons décrire son calcul pas à pas[6]

- On commence par calculer les écarts à la moyenne, c'est-à-dire la différence entre chaque valeur et la moyenne.
- La variance est la somme des carrés des écarts à la moyenne divisée par le nombre de valeurs moins 1.

  $var(x) = \frac{1}{N}\sum_{i=1}^{N}(xi - x)^2$.....(II.11)
- Enfin l'écart-type est obtenu en prenant la racine carrée de la variance.

  $\sigma x = \sqrt{var(x)}$.....(II.12)

d. Intervalle de confiance des réponses :

Nous venons de voir l'importance de l'écart-type de la population des réponses qui est considéré comme une évaluation de l'erreur expérimentale ou erreur pure.

L'estimation de l'écart-type(S) d'une population de réponses à partir d'un échantillon est obtenue à l'aide de la relation(**Ayad M,Barka Y,2013)**

$$S = \sqrt{\frac{1}{n-1}\sum_{i=1}^{i=n}(yi - y'i)^2} \text{.....(II.13)}$$

Mais la qualité de cette estimation dépend du nombre n de valeurs prises en compte pour calculer l'écart-type. Si l'échantillon contient beaucoup de mesures, l'écart-type calculé sera de bonne qualité, c'est-à-dire proche de l'écart-type de la population.

Si l'échantillon contient peu de mesures, l'écart-type calculé sera de moins bonne qualité et il faudra prendre des précautions supplémentaires pour l'utiliser.

L'intervalle de confiance **Ic** dépend :

- de la probabilité choisie par l'utilisateur ; cette probabilité est souvent de 95 % ou 99%
- de la qualité de l'écart-type calculé. On a :!

$$Ic = x \pm t\frac{\sigma}{\sqrt{n}} \quad \text{(II.14)}$$

Ic : intervalle de confiance

x : moyenne sur l'échantillon

t : coefficient fonction de niveau de confiance

σ :Ecart type sur la population (connu ou estimé)

n : taille de l'echantillon

e-Etude de la multi-colinéarité :

Pour détecter les multicolinéarités et identifier les variables impliquées dans des multicolénéarités, on effectue des régressions linéaires de chacune des variables en fonctiondes autres. On calcule ensuite : $\mathbf{R^2}$ (coefficient de corrélation), la tolérance et le facteurd'inflation de la variance(Le **VIF**).

f-Tolérance :

C'est un indice qui donne des informations sur les liaisons (la colinéarité) entre toutesles variables explicatives. La tolérance est 1-R², est un nombre compris entre 0 et 1**(J. Goupy 2013)**

- Si elle est égale à 0 cela signifie, que le coefficient de détermination R² vaut 1. Donc que la variable devant laquelle se trouve le paramètre dont on examine la tolérance, est liée de façon déterminé aux autres variables explicatives.
- Si la tolérance vaut 1, cela signifie, que la variable devant laquelle setrouve le paramètre dont on examine la tolérance n'est pas linéairement liée aux autres
- variables, on peut regarder sans crainte le résultats du test sur le paramétre .

Le VIF (variance inflation factor) signifie facteur d'inflation de la variance. Au coursde l'analyse de régression, VIF évalue si les facteurs sont corrélés les uns aux autres

(multi-colinéarité), ce qui pourrait influencer les autres facteurs et réduire la fiabilité

Du modèle.

- Si un VIF est supérieur à 10, aura une multi-colinéarité élevée la variation semblera plus grand et le facteur apparaitra plus influencent qu'il ne l'est.
- Si VIF est plus proche de 1, alors le modèle est beaucoup plus robuste, car les facteurs ne sont pas influencés par la corrélation avec d'autres facteurs.

g-Régression de la variable :

Pour une régression linéaire simple, on calcule le coefficient R nommé coefficient de corrélation. Dans le cas d'une régression multilinéaire, on peut aussi calculer R (coefficient de corrélation multiple) mais pour juger de la qualité de la régression, on détermine R² qui est le coefficient de détermination ou même plutôt R²ajusté. regarder sans crainte le résultat du test sur le paramètre**(Rami H,Maachou H ,2019)**

h-Coefficient de détermination(R²) :

L'analyse de la variance permet de calculer une statistique très utile : le R² ou R carré.

Cette statistique est le rapport de la somme des carrés des réponses calculées(corrigées de la moyenne) à la somme des carrés des réponses mesurées (corrigées dela moyenne) :

$$R^2 = \frac{somme\ des\ carrés\ des\ réponces\ calculée\ corrigées\ de\ la\ moyenne}{somme\ des\ carées\ des\ réponces\ mésurées\ corrigées\ de\ la\ moyenne}$$

– Si le modèle permet de retrouver exactement la valeur des réponses mesurées, lasomme des carrés des réponses calculées est égale à la somme des carrés des réponses mesurées. Le R² est égal à 1.

– Si le modèle fournit des réponses calculées égales à la moyenne, la somme des carrés

des réponses calculées est égale à 0. Le R² est égal à 0. On dit que le modèle n'a pas de puissance d'explication.

Le R² est donc une mesure de la qualité du modèle. S'il est égal à 1, le modèle permetde retrouver la valeur des réponses mesurées. S'il est égal à 0, le modèle n'en dit pasplus que la moyenne des réponses.

Le R² joue véritablement son rôle d'indicateur de la qualité du modèle à condition queles résidus ne soient pas nuls. Si les résidus sont nuls, le R² est égal à 1 quelle que soitla qualité du modèle. On observe un tel cas lorsqu'il n'y a pas de degrés de liberté. Le R² est donc un bon indicateur de la qualité du modèle s'il y a plus de pointsexpérimentaux différents que de coefficients dans le modèle postulé.

Résidus :

C'est la différence entre la réponse mesurée et la réponse calculée.

II.8- L'importance des plans d'expériences :

L'importance majeur des plans d'expérience réside dans le fait qu'ils permettent d'optimiserle nombre d'expérimentations à réaliser lors de la phase d'essais, en déterminant au préalableles réels facteurs ou combinaisons de facteurs influents sur la réponse du système à étudier (**LINDER R,2005)**

II.9 – Conclusion :

Les plans d'expériences offrent un moyen simple et efficace de réduire le coût et d'augmenter la robustesse des études expérimentales effectuées lors de la conception ou

de la validation d'un produit industriel. Ils permettent d'utiliser toute la connaissance du produit dont le concepteur peut disposer a priori, offrent un cadre de modélisation rigoureux, et leur mise en œuvre ne nécessite que des connaissances mathématiques élémentaires. Cette ressource n'offre naturellement qu'un aperçu des possibilités de cette méthode ; nous donnons pour cette raison un certain nombre de références, permettant au lecteur d'approfondir ou de découvrir d'autres points de vue sur le sujet.

Chapitre III



Matériel et Méthode

Le présent travail consiste ‘’l’optimisation de méthode d’extraction des composés phénoliques des feuilles babicier (néflier) ‘’. La partie pratique de ce travail est réalisé au laboratoire SM département science de la matière Université Yahia Fares MEDEA.

III.1-Matériel :

III.1.1- Matériel biologique :

Notre étude est basée sur les feuilles et d*e Mespilus germanica L* (Néflier) qui ont été récoltées au mois de février 2022 à Médéa (sidi naamane)



Figure III.1: photographie de la plante *Mespilus germanica L* (Néflier).

- **Séchage et brouayage :**

Nous avons cueilli la plante fraîchement, après avoir enlevé la poussière et d'autres particules par lavage avec l’eau, la plante a été séché à l'air libre pendant 10-15 jours à l’obscurité, puis on l’a broyé jusqu’à obtention d’une poudre fine **(**figure 02). La poudre résultante est conservée à l’abri de l’air de l’humidité et de la lumière dans un sac à papier pour gardé tout les propriétés et pour évité tout une dégradation.



Figure III.2 : la poudre de feuilles sèches.

1- Séchage :

L'étape de séchage a pour but d'abaisser la teneur en eau des feuilles,

A fin d'éviter toute réaction d'altération et de prolifération des microorganismes. L'aspect des feuilles séchées est représenté dans la (figure 3).



Figure III.3 : les feuilles séchées.

III.2- Méthode :

III.2.1-Macération et extraction des composés phénoliques

L'extraction est une opération qui consiste à séparer certains composés de l'organisme végétale avec diverses techniques.

L'extraction des composés phénoliques , se fait selon plusieurs modes tels que : l'infusion, la décoction et la macération. Dans notre étude nous avons utilisé la macération dans le méthanol**.**

Il s'agit d'extraire des métabolites secondaires présents dans la poudre des feuilles sèches de néflier. Le solvant utilisé telle que le méthanol+eau.

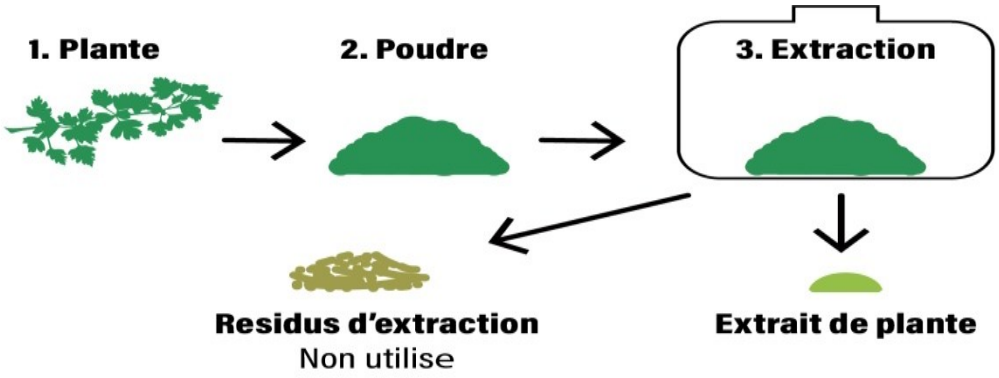


Figure III.4: schéma répartition des étapes de macération.

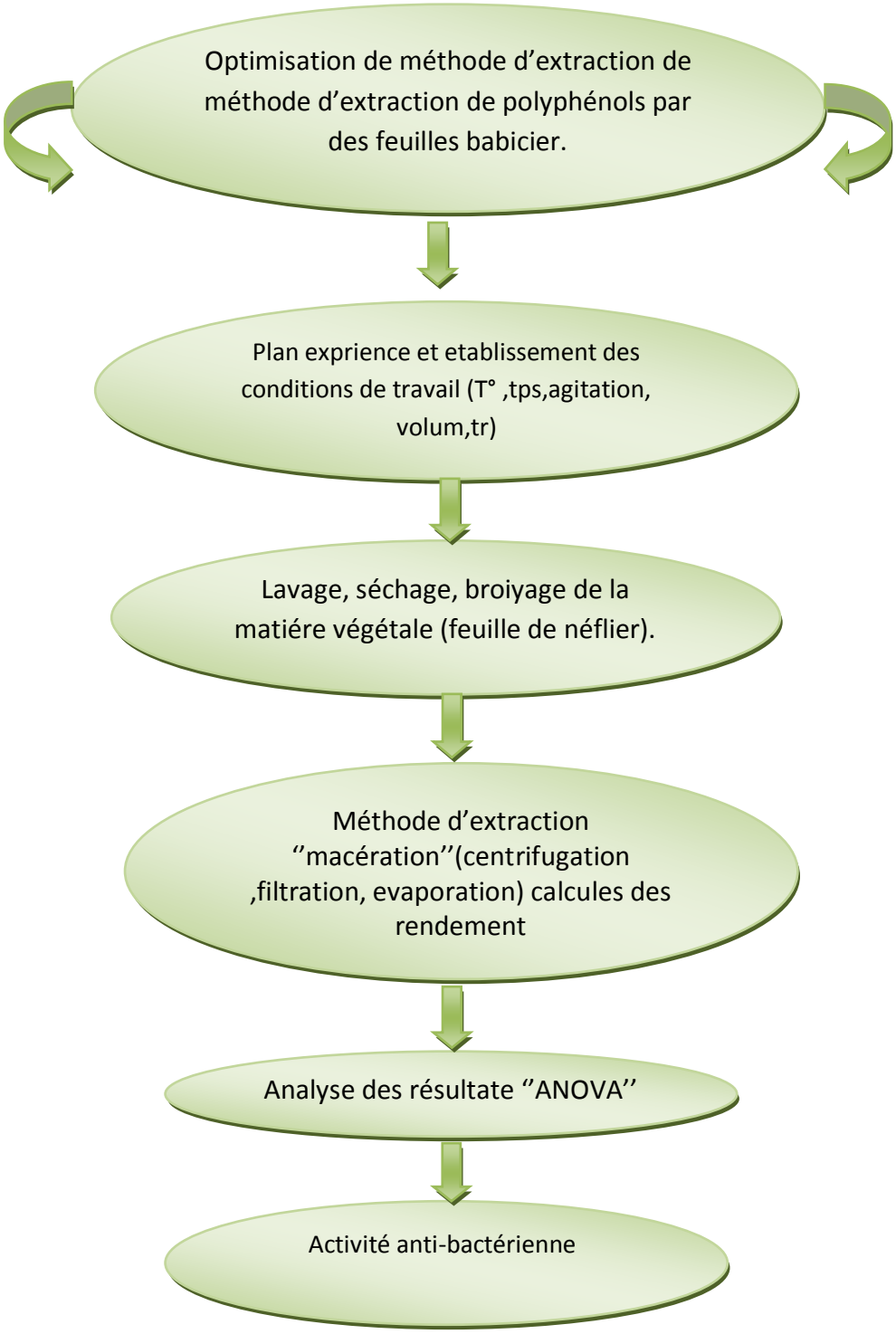


Schéma III.1 : Schéma générale des différentes étapes du travail.

III.2.2-la méthode de la surface de réponse (RSM) :

La méthodologie de surface de réponse (RSM) a été utilisée pour étudier et analyser statistiquement le rendement d'extraction des composé phynolique des feuille de babicier. Ces méthodes de modélisation permettent notamment d'établir des modèles mathématiques faisant intervenir différents paramètres qui affectent le redement d'extraction . Le RSM a été utilisé dans cette étude pour examiner les effets simultanés des variables indépendantes (température,temps,temps agitation, polarité de solvant, nombre de tours, volume du solvant) sur la. Les niveaux : minimal, moyen et maximal, de chaque variable sont nommés respectivement sous formes codées -1, 0 et +1. Le Tableau 2 représente les facteurs étudiés et la plage de variations autorisées pour chaque facteur (domaine d'étude).

III.2.2.1-Choix du plan d'expériences :

Avant da commencer la préparation, il est nécessaire de déterminer les paramètres optimal, l'optimisation et réalisé par un plan de(box-benkhen) à six facteurs (X_1,X_2,X_3,X_4,X_5,X_6), et à trois niveaux pour but d'étudié l'influence de ces paramètre sur l'extraction des polyphénols des feuille de néflier

Facteurs	Niveaux			Unité	Symbole
	-1	0	+1		
Polarité du solvant	60	75	90	%	P
Volume de solvant	5	10	15	ml	V
Température	20	30	40	°C	T°
Temps d'extraction	6	24	42	h	T
Temps d'agitation	5	10	15	min	T
Nombre de tours	3000	4500	6000	Tr/min	Nbr

Tableau III.1 : la valeur codée des facteurs choisis pour l'extraction.

Observation	polarité du solvant	Temperature	volume de solvant	Temps Extraction	Temps agitation	Nombre de tours
Obs1	60	20	10	24	10	4500
Obs2	90	20	10	24	10	4500
Obs3	60	40	10	24	10	4500
Obs4	90	40	10	24	10	4500
Obs5	60	30	5	24	10	4500
Obs6	90	30	5	24	10	4500
Obs7	60	30	15	24	10	4500
Obs8	90	30	15	24	10	4500
Obs9	60	30	10	6	10	4500
Obs10	90	30	10	6	10	4500
.						
.						
.						
Obs61	75	30	10	24	10	4500

Tableau III.2 : les valeurs réelles des facteurs choisis pour l'extraction.

Nb : tableaux complète Annexe 1.

Pour ce faire, 2g des (feuilles) séchées et broyées ont été mélangés avec différent volume de solvant (eau+méthanol) 5ml/10ml /15ml, puis agité sur un agitateur magnétique. Le mélange a été laissé à des conditions suivant le plan expérience (temps d'extraction température nombres tour+temps de centrifugation) puis filtré grâce a du papier filtre. L'extrait obtenu a été évaporé sur un bain-marie pour obtiens la mass d'extrait puis calculer le rendement.

III.2. 3.Préparation des solvants :

Polarité 75ml/25ml → 75ml méthanol et 25ml eau distillé.

A l'aide d'un éprouvette graduée de 100ml nous mettons 75ml de méthanol ensuit ajouté 25ml d'eau distillé dans un bécher, agité manuellement quelque second pour être bien mélangé.

- Répétez ensuite la même préparation avec les solutions restantes :

Polarité 60ml/40ml → 60ml méthanol et 40ml eau distillé.

Polarité 90ml/10ml → 90ml méthanol et 10ml eau distillé.

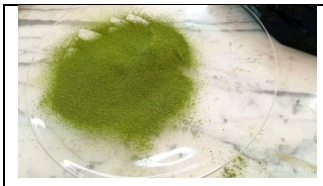
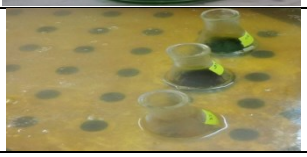
	Poudre fine des feuilles dans chaque essai en prendre 2g de poudre dans un volume présise de solvant suivant chaque essai (5ml/10ml /15ml).
	Erlenmeyer de 25ml ou 50ml bien couvres pour Evité tout une dégradation de l'extrait par la lumière. Placé sur un agitateur magnétique, ou une plaque chauffant avec un agitateur
	Centrifugation qui permet de séparer les constituants du tube (phase résidus+ phase d'extrait de plant)
	La filtration simple (entonnoir+papier filtre) ensuit récupéré le filtrat.
	Evaporation par un évaporateur rotatif pour but d'obtenir l'extrait sec.

Tableau III.3 : méthode de préparation d'extrait pure.

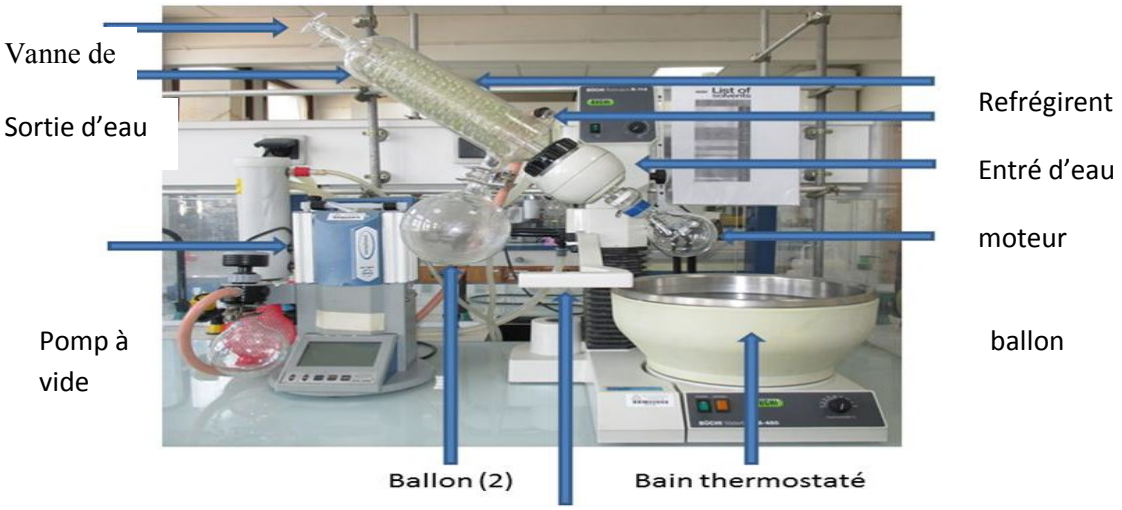


Figure III.5: évaporateur rotatif.

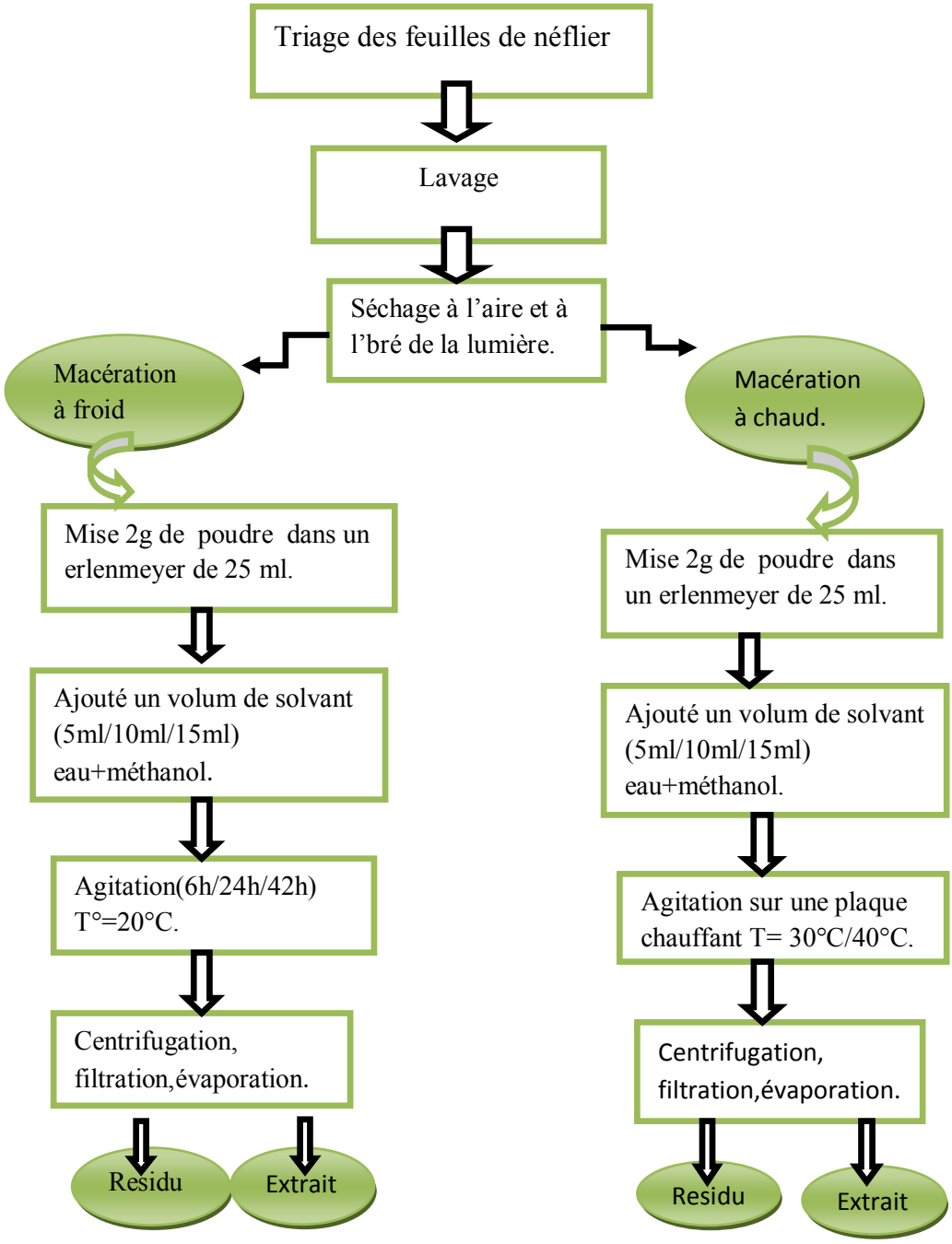


Schéma III.2 : schéma d'extraction ‘’macération’’

Avant l'évaporation il faut peser le ballon vide puis le peser après l'évaporation. Les rendements de chaque extraction sont calculés par le rapport entre l'extrait brut obtenu et le broyat végétal sec introduit.

- Le poids de l'extrait sec est déterminé par la différence entre le poids de ballon plein (après évaporation) et le poids du ballon vide (avant évaporation).

Selon l'équation suivante :

$$R\% = \frac{la\ mass\ de\ l'extrait\ sec}{la\ mass\ de\ la\ matière\ végétale} \times 100 \quad \text{.....(III.1)}$$

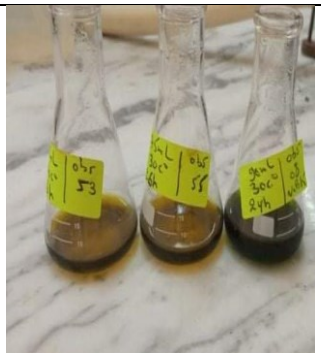
Figure N°6 :L'extrait après filtration	**Figure N°7 :**L'extrait après évaporation	**Figure N°8 :**L'extrait à conservé
		

Tableau III.4 : l'extrait de plant obtenu.



Matériels et méthodes d'activités antibactériennes

III.3-Activité antibactérienne :

On recherche dans cette partie l'effet de l'extrait des feuilles *Mespilus Germanica L* (néflier) sur les bactéries, donc la sensibilité de la souche bactérienne aux extraits.

L'activité antibactérienne des extraits a été évaluée sur 2 souches bactériennes. E. Coli et coliforme fécaux Les souches bactériennes proviennent du Laboratoire de L'ADE et laboratoire de santé publique Médéa(Chellalet AL Adhaoura)..

III.3.1- Matériel :

Lors de la préparation des solutions bactériennes, nous avons utilisé l'eau distillée, le milieu de culture, les tubes à essai et les disques l'eau physiologie les souches bactérienne.

Sur les **61** expériences, nous avons choisi celle avec le meilleur rendement, c'est **l'obs n°23** de condition suivant :

-Polarité de solvant 75ml/25ml.

-Température 20°C.

-volume de solvant 15ml.

-tempe d'extraction 24h.

-temps agitation 10min.

-nombre de tours 4500tr /min.

III.3.2- Méthode :

III.3.2.1-Préparation des bactéries :

Nous avons prélevé quelque colonie de bactérie cultivées sur gélose nutritive avec une pipette de pasteur et nous avons ajouté dans un tube contenant 10 ml d'eau physiologique, on mesuré leur DO et doivent être confinés dans ce domaine [0,08 – 0,1].

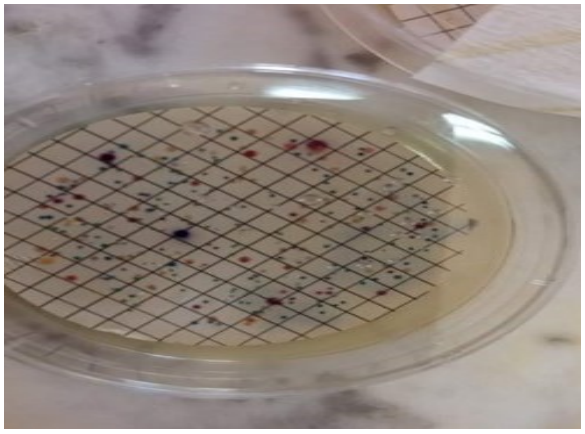
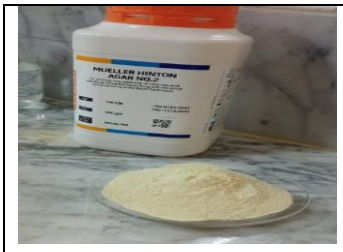
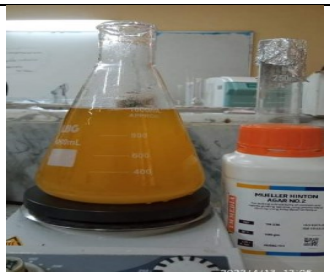


Figure III.9: les souches bactérienne.

III.3.2.2-Préparation de Milieu de culture :

Dans cette étape en préparer milieu Mueller Hinton 38g de poudre dans un 1000ml d'eau distillé laissez sur plaque chauffant jusqu'à l'apparaissions d'un mousse à sa surface, puis stérilisé dans l'autoclave.

On coule le milieu chaud dans les boites de pétries, l'épaisseur de la gélose est de 4mm, d'après cette étape tout le travail se fait dans un zone stérile (zone entour d'un bec bunsen).

	on à pesé 38g de Agar dans un verre de montre.
	La solution préparé laissez sur chauffage.

	Verser le milieu dans un flacon en verre bien fermé pour la stérilisation.
	L'écoulement des boit sur un zone stérile pour évité tout une contamination et garantir les résultantes obtenu.

Tableau III.5 : méthode utilisé d'activité antibactérienne.

III.3.2.3-Ensemencement :

L'ensemencement se fait par écouvillonnage sur boites Pétri, un écouvillon (une coton tige) est trempé dans la suspension bactérienne, puis appliqué au milieu (gélose) sur toute la surface de haut en bas en ligne étroites, le processus est répété deux à trois fois en tournant la boite de 60° à chaque fois. L'ensemencement est complété par un dernier passage de l'écouvillon sur toute la surface de la gélose.

III.3.2.4-Application des disques :

Des disques stériles saturés à une concentration de mol/ml de l'extrait à tester sont déposés à l'aide de pince à la surface du milieu gélosé, pré-ensemencé à 15 mm du bord de la boîte de pétri doit être posé complètement à plat sans glisser en appuyant légèrement sur la surface de la gélose. Enfin, les boites de pétri ont été incubées à l'étuve pendant 24 heures à 37°c.



Figure III.10 : l'ensemensement .

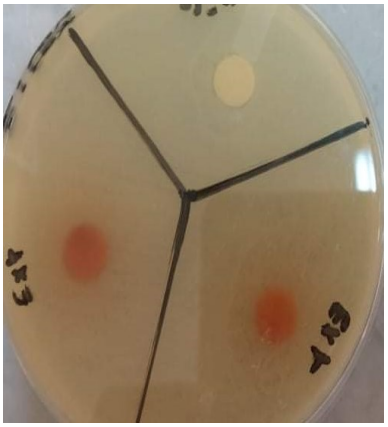


Figure III.11: l'application des disques.

Chapitre IV



Résultats et discusions

IV.1-Résultats et discussion :

IV.1.1-détermination du rendement d'extraction :

Le rendement d'extraction du composé phénolique il dépend de la méthode d'extraction, la polarité et le volume du solvant, la température, le tempe d'agitation…

Dans notre travail, une extraction (solide-liquide) par macération à été réalisée en utilisant trois solvants à polarité croisant (60/75/90) un fois l'extrait sec obtenu les calcule du taux d'extraction pour chaque extrait (61 extrait) donné les résultats suivants (Tableau N°1**)**

La masse de l'extrait sec à été déterminé par la différence entre le poids de ballon vide (avant l'évaporation) et le poids après l'évaporation selon l'équation suivant :

La masse d'extrait sec = P1 – P0……………………….(IV.1)

Avec :

–***P0 :*** le poids de ballon vide (avant évaporation).

–***P1*** : le poids de ballon plain (après évaporation).

Donc, on peut calculer le rendement R d'extraction selon l'équation suivante

$$R\% = \frac{la\ masse\ d^{F}extrait\ sec}{la\ masse\ de\ matériel\ végétale} * 100 \qquad \text{(IV.2)}$$

Avec :

R : le rendement en pourcentage(%).

La masse de matériel végétale =2g.

- Le tableau suivant représente les meilleures valeurs de rendement d'extraction.

Tableau IV.1 : les meilleures valeurs de rendement.

Observation	Ordre de tri	P0	P1	Rendement
Obs2	2	22,704	23,125	21,05
Obs7	7	22,037	22,47	21,65
Obs12	12	22,315	22,709	19,7
Obs15	15	22,749	23,114	18,25
Obs23	23	22,321	22,83	25,45
Obs33	33	22,768	23,187	20,95

Obs35	35	22,753	23,148	19,75
Obs38	38	22,14	22,53	19,5
Obs40	40	21,89	22,254	18,2
Obs42	42	22,117	22,603	24,3
Obs44	44	21,93	22,317	19,35
Obs46	46	22,131	22,537	20,3
Obs48	48	22,693	23,085	19,6
Obs49	49	22,029	22,405	18,8
Obs52	52	21,966	22,313	17,35

Nb : Tableau complète au annex 2.

A partir de se tableau on ve fait un traitement statistique pour estimer les coefficients du modèle mathématique. La signification statistique dans le programme. Les termes du modèle ont été sélectionnés ou rejetés sur la base de la valeur de probabilité avec un niveau de confiance de 95 %. (Analyse de variance) pour but d'obtention la meilleur modèle (détermination des variables plus effectif pour cette extraction) puis facteur de corrélation et l'équation de rendement en fonction des variables.

IV.1.2-Plan de Box-Behnken :

Un plan de Box-Behnken est un type de plan de surface de réponse dans lequel les points se situent à des combinaisons des niveaux de facteurs supérieur et inférieur et de leurs points centraux. Il possède des combinaisons de traitement qui sont situées aux points centraux des bords de l'espace expérimental et qui requièrent au moins trois facteurs continus et permet une estimation efficace des coefficients de premier et de second ordre.

- L'analyse statistique du modèle est exécutée en analysant la variance **(ANOVA)**. Cette analyse incluse le test du Fisher (Signification du modèle globale), sa probabilité associée P(F), le coefficient de corrélation $\mathbf{R^2}$ qui mesure la qualité d'ajustement du modèle de régression.

IV.1.3-L'analyse de la variance (ANOVA) :est un outil essentiel dans la détermination de la signification d'un effet ou d'un modèle mathématique. Le principe de l'analyse de la variance est basé sur le calcul de l'écart total entre les différences mesures **Yi** du plan d'expérience et la moyenne de ces mesures.

- La statistique la plus importante dans l'analyse de la variance est la valeur P. Cette valeur peut prendre des valeurs comprises entre 0 et 1. Si elle est inférieure à 0,05, on conclut que l'effet est significatif et si elle est inférieure à 0,01, il est possible de conclure que le facteur est hautement significatif.
- Le **R²** est donc une mesure de la qualité du modèle qui prend des valeurs comprises entre 0 et 1. S'il est proche de 1, le modèle permet de retrouver les valeurs des réponses mesurées.X S'il est égal à 0, le modèle n'explique rien.

IV.1.4-Statistique descriptives :

Consiste en un traitement des données pour but d'organiser et présenter sous forme de tableaux, et visualiser dans des graphiques et de les résumer en quelques valeurs numérique s'appelées caractéristiques.

Variable	Observation	Minimum de rendement	Maximum de rendement	moyenne	Ecart type
rendement	61	0,00	25,45	13,875	6,167

Tableau IV.2 : Représentation statistique descriptives.

Variable	Modalités	Effectifs	%
polarité du solvant	60	10	16,393
	75	41	67,213
	90	10	16,393
Température	20	10	16,393
	30	41	67,213
	40	10	16,393
volume de solvant	5	10	16,393
	10	41	67,213
	15	10	16,393
Temps extraction	6	10	16,393
	24	41	67,213
	42	10	16,393
Temps agitation	5	10	16,393
	10	41	67,213
	15	10	16,393
Nombre de tours	3000	10	16,393
	4500	41	67,213
	6000	10	16,393

Tableau IV.3 : Représentation les valeurs de modalités et des effectifs et des effectifs cumulés

Ce tableau nous donnes une étude descriptive de l'expérience où :

- Par rapport **la polarité de solvant** on 3 modalité c'est-à-dire les valeurs possible des variable.

- Quand nous prenons La modalité 60 le nombre d'expérience 10 suit un effectif cumulé de 16,393%.

- pour la modalité 75 le nombre d'expérience 41 sont effectif cumulé 67,213 %.

- pour la modalité 90 le nombre d'expérience 10 sont effectif cumulé 16,393.

L'ensemble d'expérience donnée 61.

- Par rapport la **température :**

On à 10 expérience lorsque la **température** 20°C, et 41 si la **température** 30°C, si la **Température** prendre la valeur 40°C le nombra d'expérience 10.

- Donc la même pour l'autre facteur :

- Lorsque le **volume de solvant** prendre la valeur 5ml pendent un **temps extraction** de 6h sur une **agitation pendent** 5min de 3000 tr/min le nombre d'expérience est 10.
- Si le **volume de solvant** 10 ml pendent un **temps extraction** de 24h sur une **agitation pendent** 10min de 4500 tr/min le nombre d'expérience est 41.
- Quand en prendre le **volume de solvant** 15 ml pendent un **temps extraction** de 42h sur une **agitation pendent** 15min de 6000 tr/min le nombre d'expérience bien sur ce sera 10c'est complété le nombre précédent (10+41) pour obtenir 61 expérience.

IV.1.5--Régression de la variable rendement(ANOVA2) :

Nombre de Variable	Variable	R^2	R^2 ajusté
1	Température*volume de solvant	0.833	0.807
2	Température*temps extraction /volume de Solvant*temps agitation	0.885	0.843
3	Température*temps extraction /volume de Solvant*temps agitation/temps extraction*temps agitation	0.903	0.854

4	Polarité du solvant*nombre de tours /temperature*temps extraction/ volume de solvant*temps agitation /temps extraction*temps agitation	0.933	0.874

Tableau IV.4 : Régression de la variable rendement de deux interaction (ANOVA)

D'après ce tableau on conclut que :

- le nombre de variable'' 1 '' trouve :

Le Facteur de corrélation **R^2=0.833**, donc on peut dire que (Température*volume de solvant) est parmi les facteurs les plus influents sur le rendement de la réaction si l'on prendre en compte l'effet d'un seul variable.

- Le nombre de variable ''2'' :

Les variable Temperature*Temps extraction/ volume de solvant*Temps agitation en consédiration (Temperature*Temps) un seul variable et (volume de solvant*Temps agitation)un autre variable, avec un facteur de corrélation **R^2=0.885**.

- Le nombre de variable ''3'' :

L'interaction de trois facteur les plus influents c'est (Température *Temps extraction / volume de solvant*Temps d'agitation/ Temps extraction*Temps d'agitation), avec un facteur de corrélation **R^2=0.903.**

- le nombre de variable'' 4'' :

Polarité du solvant*nombre de tours / température*temps extraction / volume de solvant*temps agitation / temps extraction*temps agitation ce modèle mathématique donnée **R^2=0.933** donc c'est la meilleure modèle pour le critère de sélection choisi. Peut dire que facteurs les plus influents sur le rendement de la réaction c'est affiché en jaune.

- Les résultats de l'étude montrent que le facteur qui possède une influence hautement significative sur l'extraction des polyphénols de la poudre étudiée est la Polarité du solvant*nombre de tours / température*temps extraction / volume de solvant*temps agitation / temps extraction*temps agitation avec une probabilité de P= <0,116 ; P=<0,0001 ; P= <0,0001 ; P=<0 ,049 respectivement.

En effet plusieurs études ont montré les mélanges alcool-eau distillée donne une

meilleure efficacité d'extraction des composés phénoliques comparant aux systèmes à solvant unique. En augmentant la proportion de l'eau distillée à le méthanol, la polarité du solvant augmente, ainsi le système solvant sera capable d'extraire les polyphénols à haute polarité et ceux à polarité basse et également ceux à polarité moyenne.

IV.1.6-Coefficient d'ajustement :

observation	61
DDL	32
R^2	0.933
R^2 ajusté	0.874

Tableau IV.5 : Représentation de coefficient d'ajustement

- Le coefficient d'ajustement il nous donne des informations sur les expèriences qui ne sont pas affectées par les facteurs (n'est pas l'effet de chaque facteur seul mais plutôt les uns avec les autres) , donc ce qui etre libre .

DDL= degré de liberti =32 le nombre de facteur que n'influant pas.

L'efficacité d'ajustement globale est exprimée par le coefficient de régression **R^2.** Dans la présente étude, la valeur de **R^2** est de **0,93%,** ce qui signifie uniquement 0,07 (7%) des variations ne sont pas expliquées par le modèle. De plus, la valeur du coefficient de détermination ajusté est élevée **(R^2ajusté = 0,874),** ce qui confirme la haute significativité du modèle. La valeur du R^2 ajusté (valeur du R^2 après élimination des coefficients inutiles du modèle) sera inférieure à celle de R^2 si le modèle contient beaucoup de termes inutiles (non significatifs).

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	Pr > F
Modèle	28	2128,116	76,004	< 0,0001
Erreur	32	153,627	4,801	
Total corrigé	60	2281,743		

Tableau IV.6: Représentation d'analyse de la régression du modèle

- L'analyse de la variance de la régression du modèle montre que le modèle est très significatif (p < 0,0001) et que le manque d'ajustement n'est pas significatif (P >0,05) par

rapport à l'erreur pure, ce qui confirme que le modèle est satisfaisant.

IV.1.7-Prédictions et résidus

Dans ce graphe elle est représenté le rendement en fonction de la prédiction de Rendement alors :

Cette corrélation peut aussi être illustrée en traçant les réponses calculée, en fonction des réponses prédiction , comme présenté sur la figure1, ce qui montre une forte corrélation entre celles-ci :

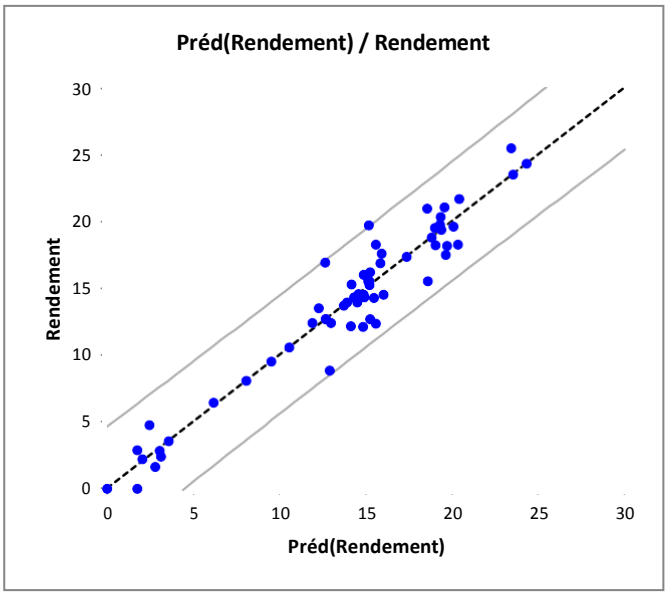
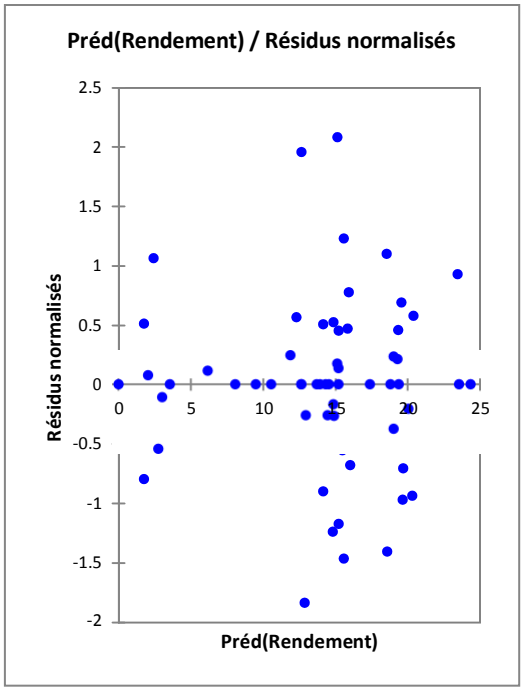


Figure IV.1 : Représentation graphique de rendement en fonction de la prédictionRendement.

-Le graphique représente le rendement d'extraction en fonction de prédiction rendement c'est un droit qui passe par l'origine, la répartition équitable des point du haut et du bas par rapport le droit (y à une symétrie) qu'on peut dire qu'il y à une corrélation entre les facteurs.

- Si les point sont pas réparti et condensé d'un seul coté cela signifie qu'il n'y pas une corrélation.



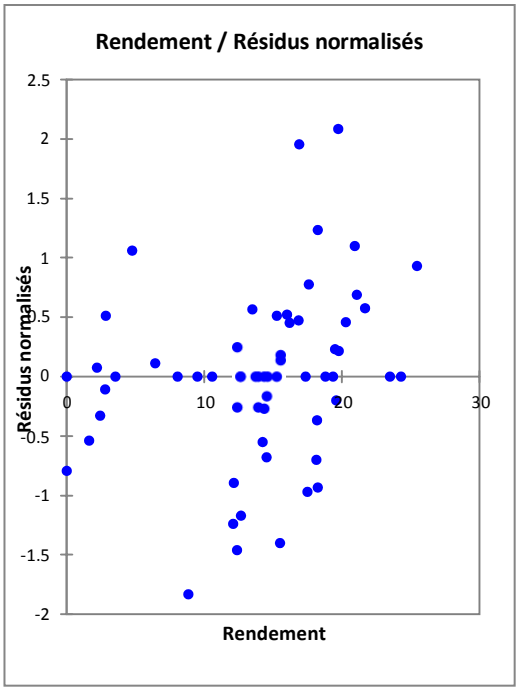


Figure IV.2 **Figure IV.3**

Figure IV.2 : Représentation graphique résidus normalisés en fonction prédiction Rendement.

Figure IV.3: Représentation graphique résidus normalisés en fonction de rendement d'extraction.

Les graphiques ci-dessus (figure n°1 figure n°2 figure 3) données une information sur le modèle d'après la relation entre les valeurs résidus, et les prédictions les points semblent disposé équitablement, Ce résultat traduit la présence d'information sur la corrélation entre les valeurs .En conclusion, ce modèle adéquat pour le travail de méthode d'extraction des polyphénols des feuilles de néflier.

IV.1.8-Graphiques des moyennes

- Au début de l'analyse, nous avons dit qu'il y a des facteurs qui ont un impact significatif, contrairement à certains autres facteurs notamment :

- Polarité du solvant*nombre de tours, comme un seule facteur.

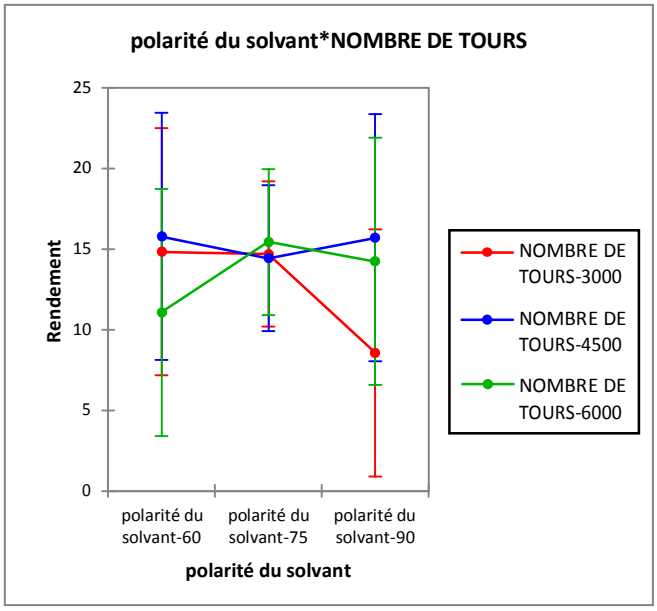


Figure IV.4: étude effet de la polarité du solvant*nombre de tours.

Représentation graphique le rendement d'extraction en fonction de (Polarité de solvant*nombre de tours)

_ La courbe en vert quand le nombre de tours 6000 tr/min, chaque croissance de polarité de solvant est suivi par une augmentation de rendement jusqu'à attendre une certaine valeur, et commence à diminuer progressivement, la valeur maximale que prend le rendement d'extraction que nous trouvons lorsque la polarité du solvant 75.

_ La courbe en bleu quand le nombre de tours est de 4500 tr/min, d'après le graphique nous remarquons que tout ce que la polarité augmente, le rendement d'extraction est relativement constant jusqu'à ce qu'il atteigne une certaine valeur, puis il commence à diminuer.

_ La courbe en rouge quand le nombre de tours est de 3000 tr/min, dans ce dernier et le rendement est initialement reste constant au cours tout augmentation de polarité, jusqu'à attendre la valeur 75 commence à diminuer proportionnellement.

A base de l'analyse graphique, on peut dire que la valeur optimale de polarité du solvant et nombre de tours pour obtenir un meilleur rendement d'extraction dans cette variable (polarité du solvant*nombre de tours) c'est 75ml et 6000 tr/min.

➢ Alors avec une autre variable on a le graph suivant qui représente rendement d'extraction en fonction de (température*temps extraction).

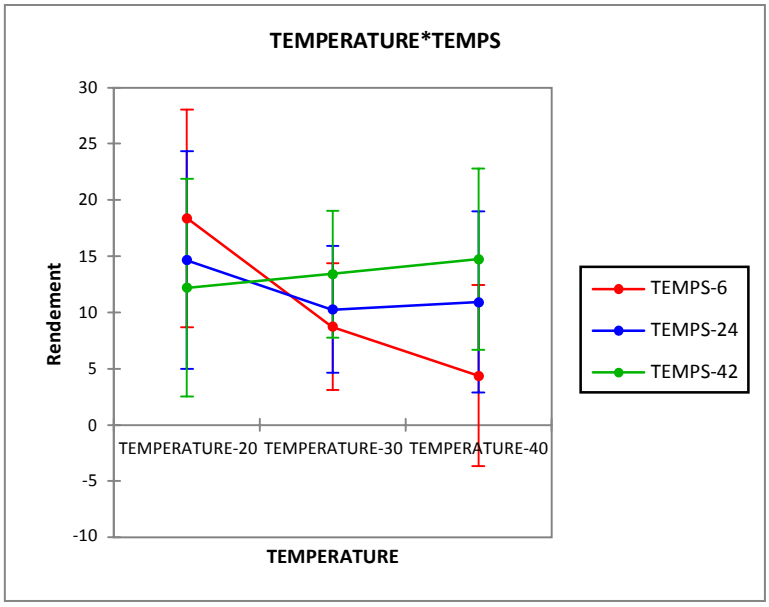


Figure IV.5 : étude effet de la température*temps extraction.

_ La courbe en vert quand le temps extraction 42h, lors de la croissance des valeurs de température, le rendement de la réaction augment donc en peut dire qu'il directement proportionnelle.

_ La courbe en bleu quand le temps extraction 24h, pendent l'augmentation de la température on observer que le rendement diminue jusqu'à atteindre une certain valeur de température, et augment avec des valeurs que l'on peut dire contant.

_ La courbe en rouge quand le temps extraction 6h, où le rendement prend une valeur maximale à une température de 20°C, puis commence à diminuer et continue la diminution même si latempérature augment, et donc inversement proportionnelle.

Donc on conclut que :

Dans la plupart des cas, les gammes élevées de température sont favorables au rendement d'extraction et ceci pour quatre principales raisons :

- La chaleur facilite l'extraction en perméabilisant les parois cellulaires par dénaturation.
- La gamme des hautes températures usuelles augmente la solubilité des matières à Extraire.
- Elle diminue la viscosité des solvants d'extraction, ce qui facilite non seulement le passage du solvant à travers la masse de substrat solide, mais aussi les opérations ultérieures de séparation.

- La limite supérieure de la température est imposée par le point d'ébullition du solvant, par les risques de dégradation thermiques du soluté et risque d'extraire des composés nuisibles. **(Galvani D'Alessandro, 2013)**

Le graphe suivant représente l'étude d'effet de volume de solvant*temps agitation sur le rendement d'extraction

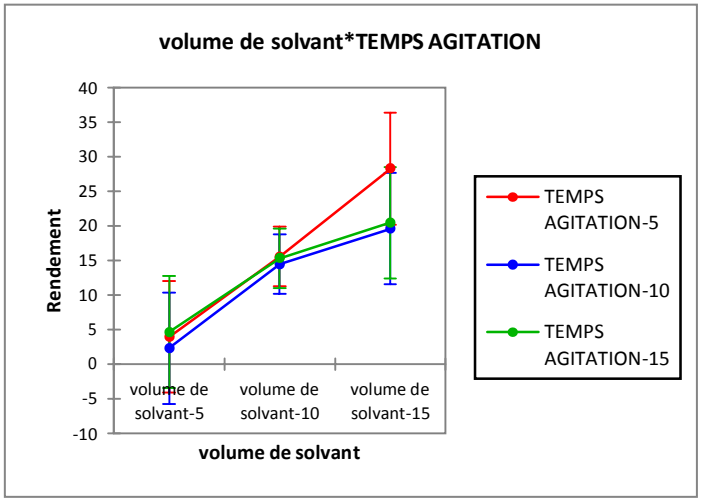


Figure IV.6 : étude effet de volume de solvant *temps agitation.

- ce représentation à été claire et net, où tout augmentation de volume de solvant et temps agitation suivi par une augmentation de rendement, et atteint le meilleur rendement au volume de solvant 10ml et temps agitation 5 min.

❖ La représentation graphique c'est l'étude de l'effet de temps sur le rendement.

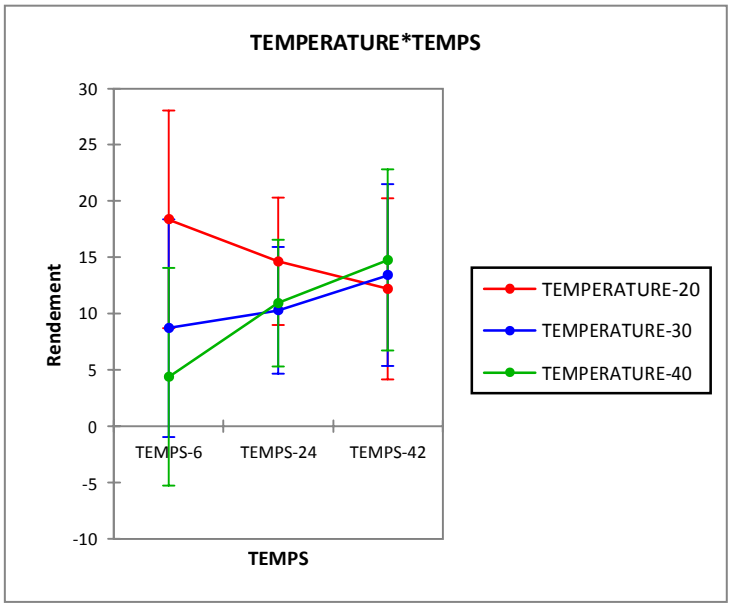


Figure IV.7 : étude effet de temps*température.

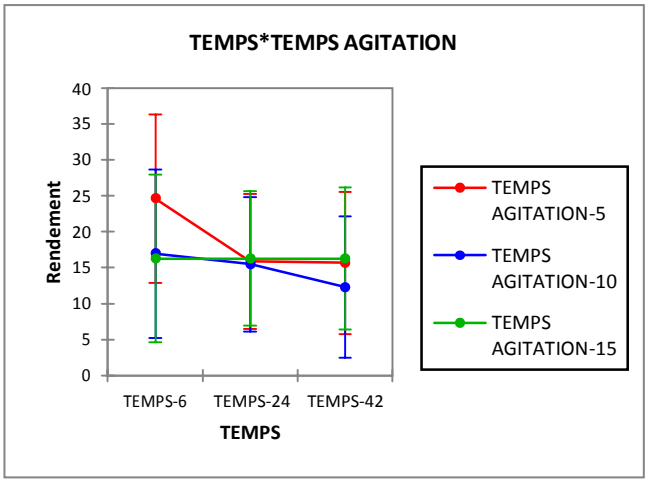
_ La courbe en vert quand la température 40°C et La courbe en bleu quand la température 30°C, il y a une proportion directe, plus le temps extraction augment le rendement augment.

_ La courbe en rouge quand la température 20°C le rendement atteindre une valeur maximal dans un temps extraction de six heures, puis diminue progressivement.

Donc le meilleur rendement quand le temps extraction très petite et à la température ambiant

Temps=6h, T°=20°C.

- ❖ Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction (temps extraction *tempsagitation).



FigureIV.7 : étude effet de temps*temps agitation.

_ La courbe en vert quand le temps agitation 15 min, on observe le rendement est constant au cours de la croissance de temps d'extraction.

_ La courbe en bleu quand le temps agitation 10 min, le rendement reste constant jusqu'à le temps d'extraction 24h puis diminue.

_ La courbe en rouge quand le temps agitation 5min, le rendement prendre une valeur maximal au temps de 6h, à partir de laquelle il commence à décroitre jusqu'à 24h, puis reste constant.

Nous avons conclu que plus le temps d'extraction était long plus le temps d'agitation Devenait un facteur inefficace.

❖ Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction (volume*temps agitation) et (temps*temps agitation).

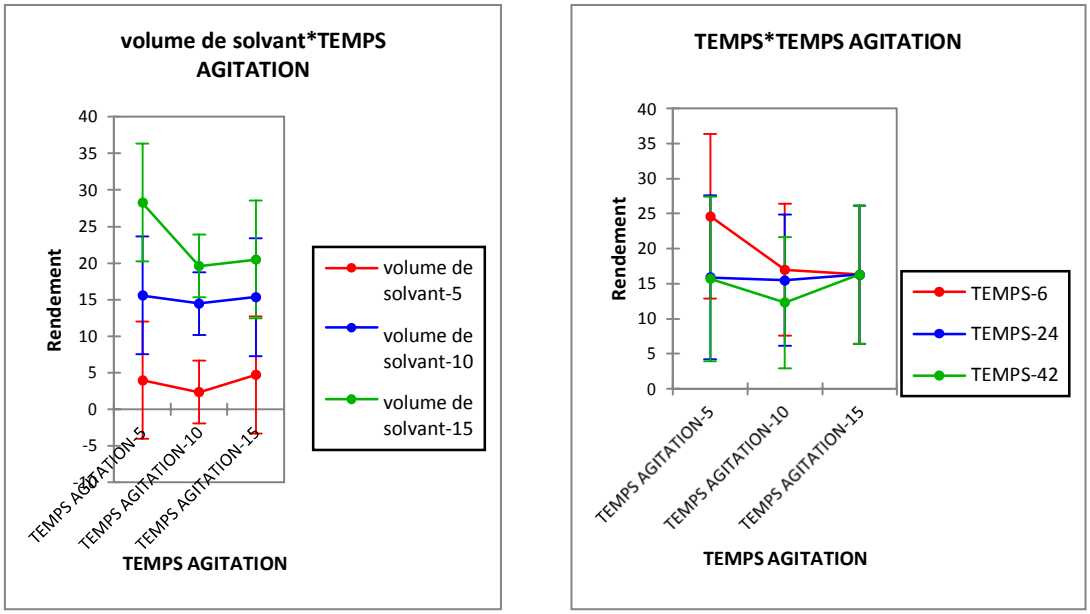


Figure IV.8 : étude effet de temps agitation*temps.

_ La courbe en vert quand le temps extraction 42h et volume de solvant 15ml le rendement (avoir une valeur maximale pour volume 15ml), les valeurs de rendement sont décroissant jusque temps agitation 10min, de celui-ci et augment.

_ La courbe en bleu quand le temps extraction 24h et volume due solvant 10ml, on observer le rendement constant à une valeur défini.

_ La courbe en rouge quand le temps extraction 6h, le rendement atteindre une valeur max jusqu'à certain valeur puis diminue et reste constant, de le volume de solvant 5ml,

Le rendement plus faible presque pas de rendement.

Nous concluons que pour obtenir le meilleur rendement d'extraction ; les valeurs des variables mentionnées ci-dessus doivent être les suivantes :

Temps agitation = 5min .

Temps d'extraction =6h .

Volume de solvant = 15min.

❖ Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction polarité du solvant*nombre de tours.

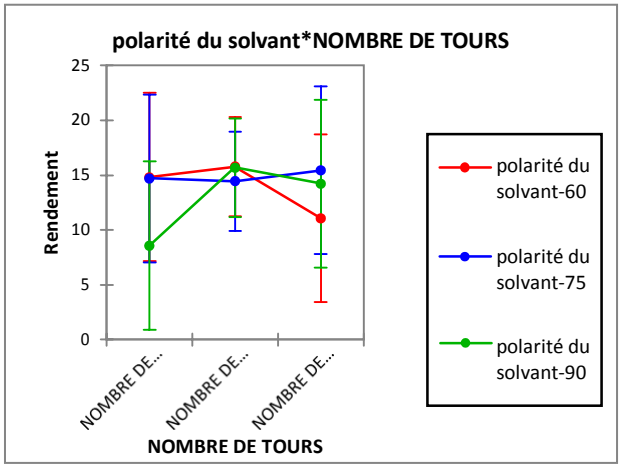


Figure IV.9: étude effet de nombre de tours*polarité du solvant.

_ La courbe en vert quand la polarité de solvant 90ml, le rendement à été augmenté proportionnellement au nombre de tours jusqu'à une valeur de 4500tr/min puis diminue.

_ La courbe en bleu quand la polarité du solvant 75ml, le rendement presque constant au cours de la croissance de nombre de tours.

_ La courbe en rouge quand la polarité du solvant 60ml le rendement reste constant jusqu'à une valeur de 4500tr/min, après celui-ci et diminue.

- En conclut que plus la polarité du solvant faible le nombre de tour n'aura aucun effet. ''La meilleure valeur de rendement quand la polarité de solvant 75ml et nombre de tours 3000tr/min.''

IV.1.10-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. Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan Box-Behnken pour six facteurs est un modèle de trois niveaux, 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. Le modèle mathématique opté dans la présente étude est représenté par la relation suivante :

Rendement = 23,63021+0,60000*X_1+1,54805* X_1 60* X_6 -4500- 3,15000* X_1 -60* X_6 -6000+0,46055* X_1 -75* X_6 -3000+0,20000* X_1 -75* X_6 -4500+1,20430* X_1 -75* X_6 -6000-5,65000* X_1 -90* X_6 -3000+1,46055* X_1 -90* X_6 -4500+3,61667*X_3 -20*X_4 -6-0,10365* X_3 -20* X_4 -24-2,55000* X_3 -20* X_4 -42-6,02995* X_3 -30* X_4 -6-4,48021* X_3 -30* X_4 -24-1,32995* X_3-30* X_4 -42-10,38333* X_3 -40* X_4 -6-3,82865* X_3 -40* X_4 -24-19,55833* X_2 -5*X_5 -5-20,75833*X_2 -5* X_5 -10-15,80000* X_2 -5* X_5 -15-7,95026* X_2 -10 X_5 -5-8,63021* X_2 -10* X_5 -10-5,15026* X_2 -10* X_5 -15+4,74167* X_2 -15* X_5 -5-3,49583* X_2 -15* X_5 -10+8,95000* X_4-6* X_5 -5+4,68333* X_4-6* X_5 -10+0,20833* X_4-24* X_5-5+3,18021* X_4-24* X_5 10

Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Il apparait que les conditions expérimentales optimales, c'est-à dire celles conduisant à une maximisation de l'extraction des polyphénols sont obtenues au sein du domaine expérimental.

Avec :

X_1= Polarité du solvant.

X_2=Volume de solvant.

X_3=Température.

X_4=Temps extraction.

X_5=Tems agitation.

X_6=Nombre de tours.

Les valeurs de probabilité inferieures à 0,05 indiquent que les termes du modèle sont significatifs. Dans notre cas X_1, X_2, X_3, X_4, X_5 X_6 sont les termes significatifs. Les valeurs de P obtenues pour les interactions du type X_1X_6 sont de 0.17 (> 0,05). Il n'y a donc pas d'effet significatif, mais pour l'interaction X_3X_4 ; X_2X_5 ; et X_4X_5 ou 0.0001 ; 0.0001 ; 0.05 P= (< 0,05).

IV.2-Résultats et discussions pour trois interaction (ANOVA 3) :

L'analyse de variance précédent est avec 2 interactions seulement par la suit en fait une analyse de variance **(ANOVA)** de 3 interactions :

- La statistique descriptive au ''**ANOVA 3''** c'est le même avec ''**ANOVA 2''.**

Avec un :

- Nombre observation 61.
- Minimum de rendement 0.00.
- Maximum de rendement 25.45.
- Ecart type 6.167.
- Moyenne 13.875.

IV.2.1-Régression de la variable Rendement :

IV.2.1.1-Synthèse de la sélection des variables :

Nombre de variable	Variables	R^2	R^2 ajusté
1	Température*volume de solvant	0,832	0,807
2	Température*temps extraction /volume de Solvant*temps agitation	0,884	0,842
3	Température*temps extraction / volume desolvant*temps agitation/Temps*temps agitation	0,902	0,853
4	Polarité du solvant*nombre de tours / température*temps / volume de solvant*temps agitation / temps*temps agitation	0,932	0,873
5	polarité du solvant*temps agitation / polarité du solvant*nombre de tours /température*temps / température*temps agitation / volume de solvant*temps agitation	0,950	0,894
6	polarité du solvant*temps extraction / polarité du solvant*nombre de tours / température*temps extraction / température*nombre de tours / volume de solvant*temps agitation / temps extraction *temps agitation	0,962	0,906

Tableau IV.7 : Régression de la variable de rendement par trois interaction ''ANOVA 3''

En général, l'efficacité d'extraction d'un composé est influencée par de multiples paramètres tels que : le temps, temps d'agitation, la polarité du solvant, Nombre de tours, température, volume de solvant. Les effets peuvent être indépendants ou interactifs**.** L'influence de ces paramètres a une importance majeure sur le rendement d'extraction des composés phénoliques. Le tableau ci-dessus donnée une information sur le facteur de corrélation entre les variables, prend en considération 3 interaction.

- Nombre de variable ''1'' R^2=0,832.
- Nombre de variable ''2'' R^2=0,884.
- Nombre de variable ''3'' R^2=0,902.
- Nombre de variable ''4'' R^2=0,932.
- Nombre de variable ''5'' R^2=0,950.
- Nombre de variable''6'' R^2=0,962.

Le modèle de nombre de variable 6 un facteur de corrélation maximal par rapport les autres modèle de **R^2=0,962**, donc on peut dire que les variables (polarité du solvant*temps extraction / polarité du solvant*nombre de tours / température*temps extraction / température*nombre de tours / volume de solvant*temps agitation / temps extraction *temps agitation) les influencés sur le rendement d'extraction, alors ce modèle Le meilleur pour le critère de sélection choisi.

IV.2.2-Coefficients d'ajustement :

Tableau IV.8 : Représentation de coefficients d'ajustement

Observation	61
DDL	24
R^2	0.963
R^2 ajusté	0.906

Le coefficient d'ajustement il nous donne des informations sur les expèriences qui ne sont pas affectées par le facteur (n'est pas l'effet de chaque facteur seul mais plutôt les uns avec les autres), donc ce qui etre libre.

DDL= degré de liberti =24 le nombre de facteure que n'influant pas.

On observe que le DDL au **ANOVA 1** (2 interaction) superieure a celle de **ANOVA 3** (3 intéraction), on conclut le nombre des facteurs que ne sont pas effectées est diminue par rapport au **ANOVA 2**.

IV.2.4-Prédictions et résidus :

La figure représente le rendement en fonction prédiction rendement on observe que les valeurs de rendement sont généralement considérées comme important, et forment un droit qui passe par l'origine conclue que une forte corrélation entre le rendement et les valeurs prédiction.

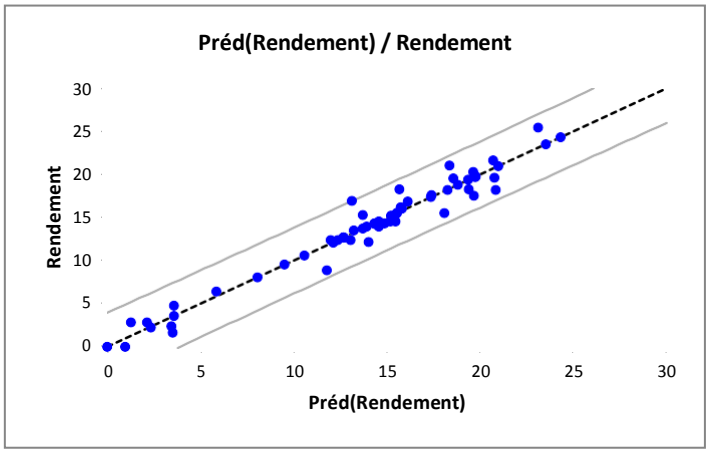


Figure IV.10: représentation graphique rendement en fonction prédiction rendement.

Les valeurs de probabilité inferieures à 0,05 indiquent que les termes du modèle sont significatifs. Dans notre cas X_1, X_2, X_3, X_4, X_5 X_6 sont les termes significatifs. Les valeurs de P obtenues pour les interactions du type X_1X_4 et X_1X_6 ; X_3X_4 ; X_3X_6 ; X_2X_5 ; X_4X_5 sont respectivement de 0.124 et 0.07 ; 0.128 (> 0,05). Il n'y a donc pas d'effet significatif, sauf pour l'interaction X_3X_4 et X_2X_5 ; X_4X_5 ou 0.0001 ; 0.0001 ; 0.011

P= (< 0,05).

IV.2.5-Graphiques des moyennes :

- Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction de (polarité du solvant*temps).

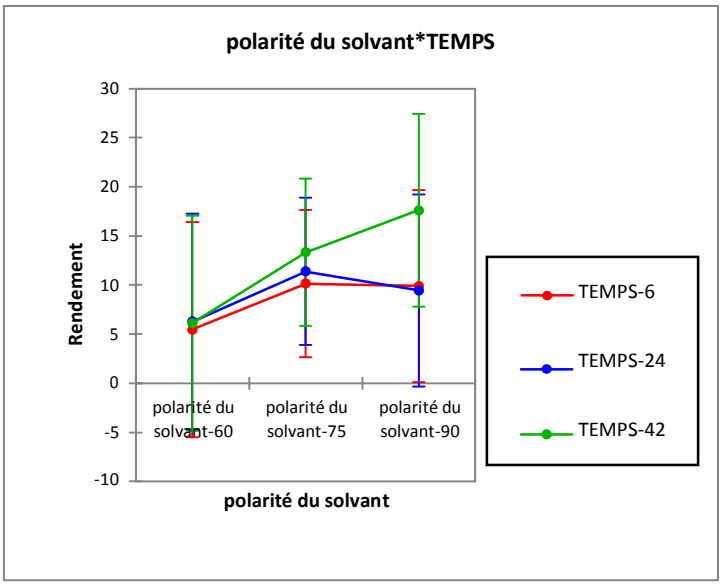


Figure IV.11: étude effet de la polarité du solvant*temps.

_ La courbe en vert quand le temps 42h, on trouver que le rendement augment de façon croissant pendent la croissance de polarité jusqu'à l'éteindre d'une valeur maximale de rendement au 90ml.

_ Les courbes en bleu et en rouge quand le temps 24h, on observe une croissance des valeurs de rendement, puis une déviation au point de polarité 75ml et une diminution.

- On conclure, quand le temps et court la polarité du solvant n'est pas un facteur très influent sur le rendement de la réaction.

➢ En ce qui concerne l'influence de polarité du solvant*temps, la sélection de solvant d'extraction est essentiel car il permettra de déterminer la quantité et type de Composés phénoliques extraits, Le mélange solvant-eau distillé semble très efficace pour l'extraction des polyphénols, car l'eau en combinaison avec méthanol contribue à la création d'une moyenne modérément polaire qui assure à la fois l'extraction des composés phénoliques pendent le temps et la préservation de leur activité antioxydants.

- L'étude statistique a montré une différence significative ($p<0.05$) entre les Teneurs en polyphénols extraits par les différentes Polarité du solvant pendent différent durée de temps allant de (polarité du solvant* temps) $P<0,026$.

❖ Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction de (température*nombre de tours).

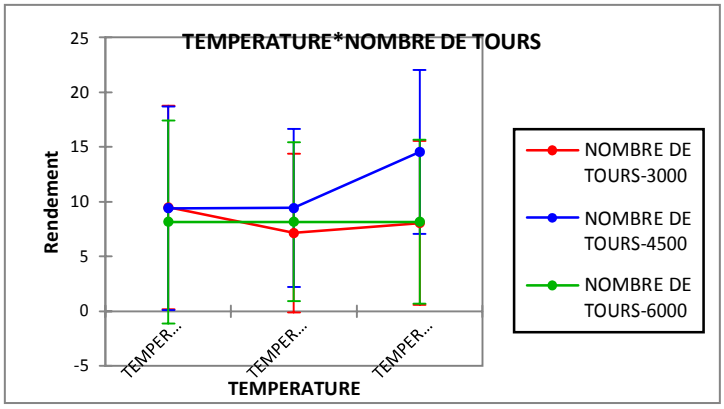


Figure IV.12: étude effet de la température*nombre de tours.

_ La courbe en vert quand le nombre de tours 6000 tr/min, les valeurs de rendement reste constant aux cours de tout augmentation des valeurs de température.

_ La courbe en bleu quand le nombre de tours 4500 tr/min, le rendement reste constant, puis faire une déviation et une augmentation à une température de 30°C jusqu'à où prendre une valeur maximal à une température de 40°C.

_ La courbe en rouge quand le nombra de tours 3000 tr/min, on observe une diminution de rendement, puis à une température de 30°C aura une certaine croissance.

Les niveaux haut et bas choisis est de (20,30 et40°C) et (3000, 4500, et 6000 tr/min) La sélection de la température d'extraction et le nombre de tours est l'une des étapes importantes de l'optimisation. L'augmentation de la température améliore l'extraction des composes polyphénoliques en cas ou le nombre de tours petit, solubilité et le coefficient de diffusion des composés à extraire et elle diminue la viscosité du solvant ce qui facilite son passage dans les substrats solides. Cependant, Les températures excessives peuvent causer la dégradation des composés phénoliques, ou cela peut provoquer une diminution de la sélectivité de l'extraction, ce qui limite les températures d'extraction à un certain seuil**.**

D'après les résultats obtenus et l'étude statistique faite, qui montre une différence significative (p<0.08) entre l'effet des températures*nombre de tours utilisées sur les teneurs en Polyphénols extraite,

❖ Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction de (polarité du solvant*temps).

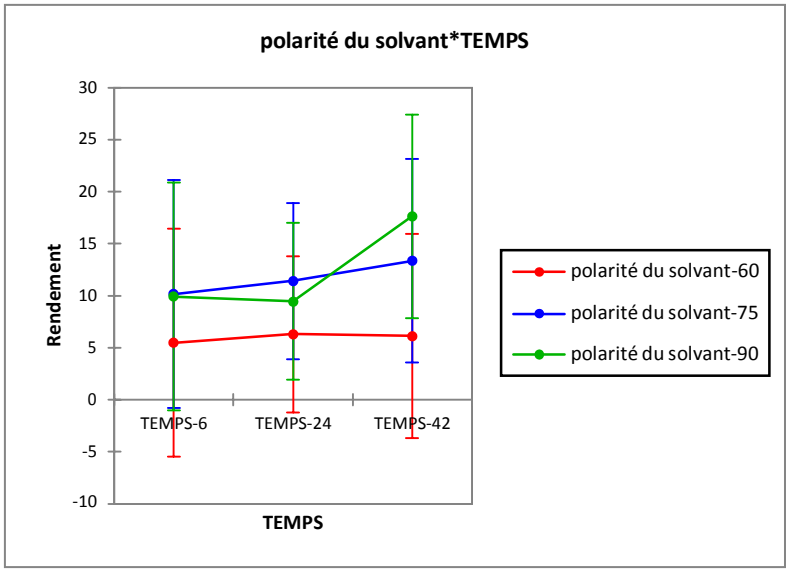


Figure IV.13: étude effet de temps extraction*polarité du solvant.

_ Dans cette graphique on observer, des valeurs contant de rendement malgré y'à une croissance de polarité (60/75/90) et une augmentation de temps jusqu'à au 24h où, la courbe en vert quand la polarité du solvant 90 y'à une augmentation des valeurs de rendement jusqu'à étreindre une valeur maximal au 42h.

_ les courbe en bleu et en rouge quand la polarité 75 et 60 on aura certaine croissance de rendement en concèderez comme constant malgré une augmentation de durée de temps.

- D'après les graphes ci-dessus en peut dire, quand la polarité du solvant faible le temps n'est pas un facteur très influent sur le rendement de la réaction.
- Les niveaux sélectionnés pour cette analyse d'extraction (6h, 24 et 42h) et (60%, 75, et 90). Le temps d'extraction est un autre paramètre principale dans la procédure d'extraction des composés phénoliques, il peut varier de quelques heures à 42 heures

Le temps pendant lequel le solvant et le matériel végétal sont mis en contact peut influencer la libération progressive de solutés à partir de la matrice végétale vers le solvant, et donc cela influence l'efficacité de l'extraction Par contre, un temps de contact prolongé n'améliore pas toujours l'efficacité de l'extraction si la polarité du solvant sont faible. Ces résultats rapportés précédemment montrant une augmentation proportionnelle du rendement à l'augmentation de temps d'extraction si la polarité du solvant son important.

❖ Représentation graphique de rendement d'extraction en fonction de (température*nombre de tours).

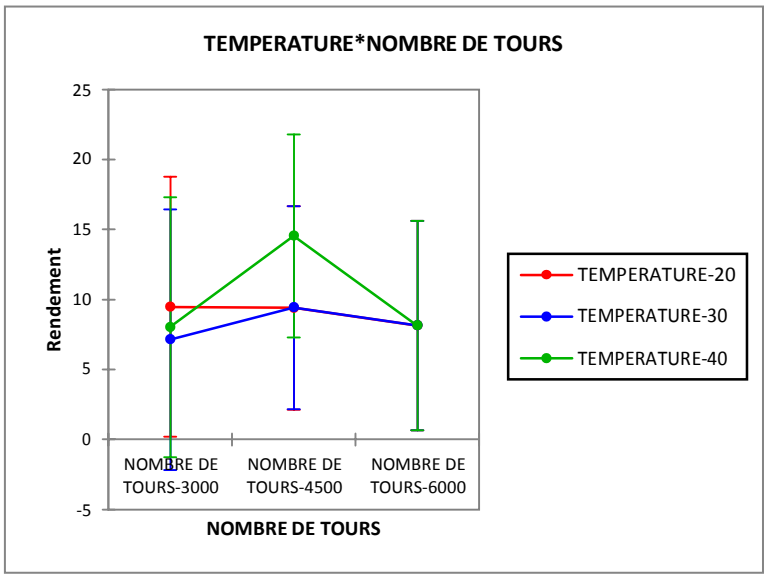


Figure IV.14: effet de nombre de tours*température.

_ Les courbes en vert et en bleu quand la température 30°C et 40°C, on observe une croissance des valeurs rendement, puis une déviation et diminution a une valeur de 4500 tr/min.

_ pour la courbe de température 20°C on trouver que le rendement reste constant jusqu'à une valeur de 4500 tr/min après cette valeur y'à aucun activité donc y'à pas d'une réaction.

D'après ces résultats et l'étude statistique faite, nombre de tours* température idéal pour l'extraction optimale des polyphénols est aux environs4500tr/min et température 40°c, avec P<0,008. L'intervalle de la ration d'extraction qui a été choisis est de (3000, 4500 et 6000tr/ min) et (20, 30, et 40°C).

IV.2.6-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**)** à trois interactions. Le modèle mathématique postulé utilisé avec le plan de

Box-Behnken **ANOVA 3** pour six 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. Le modèle mathématique opté dans la présente étude est représenté par la relation suivante :

Rendement = 25,71845-19,66667*X_1 -60* X_4 -6-13,00863* X_1 -60*X_4 -24-11,49167*X_1-60* X_4 -42-14,98423* X_1 -75* X_4 -6-7,91845* X_1 -75* X_4 -24-4,27173*X_1-75*X_4-42-15,22500* X_1 -90* X_4 -6-9,85863* X_1 -90* X_4 -24+4,65000*X_1-60*X_6-3000+10,12113* X_1 -60* X_6-4500-0,25000*X_1-75* X_6 -3000+3,36548* X_1 -75* X_6 -4500-4,75000*X_1-90*X_6-3000+5,67946*X_1 -90* X_6 -4500+19,14167*X_3 -20*X_4-6+7,40000*X3-20*X_4-24+2,59167*X3-20*X_4-42+9,03244* X_3 -30*X_4-6+3,29018* X3-30*X_4-24+3,01994* X_3 -30* X_4 -42+1,45000* X_3-20*X_6-3000-5,14167* X_3-20*X_6-4500-0,90000* X_3 -30*X_6-3000-5,10565* X_3 -30* X_6 -4500-19,55833*X_2 -5* X_5 -5-21,76220* X_2 -5*X_5 -10-15,80000* X_2 -5* X_5 -15-8,17649* X_2 -10* X_5 -5-9,61220* X_2 -10* X_5 -10-5,37649* X_2 -10* X_5 -15+4,74167* X_2 -15* X_5 -5-4,49970* X_2 -15* X_5 -10+8,95000* X_4-6* X_5 -5+5,01250* X_4 -6* X_5 -10+0,20833* X_4-24* X_5 -5+4,16220* X_4-24* X_5 -10

Avec :

X_1= Polarité du solvant.

X_2=Volume de solvant.

X_3=Température.

X_4=Temps extraction.

X_5=Tems agitation.

X_6=Nombre de tours.

- Cette étude montre qu'un modèle polynomial d'ordre deux peut modéliser correctement le phénomène étudié. Données par rassemble des variables les plus effectuées sur le rendement d'extraction d'après utilisation des trois interactions facteur de corrélation à été **R^2=0,96%.**

IV.2.7-Comparaison :

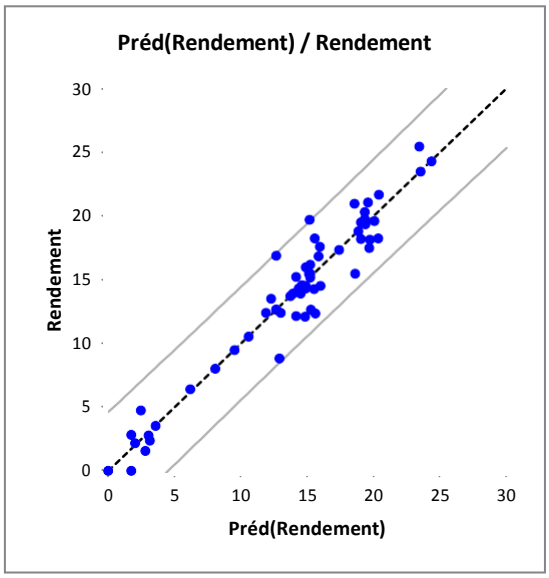
Comme mentionné précédemment, Les techniques statistiques offrent plusieurs avantages, elles sont rapides, fiables et permettent de réduire le nombre d'expériences. En appliquant ces techniques statistiques en particulier le modèle Box-Behnken dans le cadre de L'optimisation de l'extraction de la feuille des babicier, par une analyse de variance ANOVA de 2 et 3 interaction

On faire les deux analyse car L'optimisation d'autres facteurs ayant une influence sur le rendement d'extraction.

Après avoir les deux interactions on trouver que une amélioration de facteur de corrélation

Aux R^2=0.93% à R^2=0.96% .

Les figure suivant va démontre :



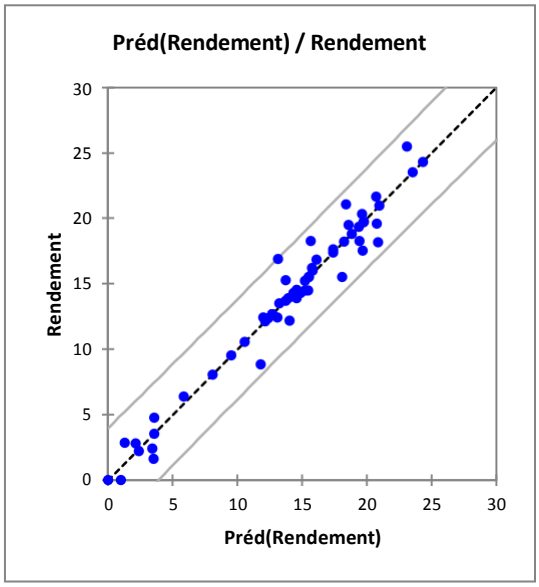


Figure IV.15 : **Figure IV.16**

Figure IV.15 : représentation graphique rendement en fonction prédiction rendement ANOVA 2.

Figure IV.16: représentation graphique rendement en fonction prédiction rendement ANOVA 3.

Où on observe une convergence des valeurs prédiction et le rendement après 2 interaction, mais pas avec cette distribution que l'on retrouve au analyse de 3 interaction, quand les valeurs rapportées sous forme d'une ligne droit qui passe par l'origine, ce qui explique la présence de la fort corrélation entre les facteurs.

IV.3-Conclusion :

Dans ce travail nous avons appliqué une méthodologie mathématique (plan d'expérience) faisant intervenir différents paramètres qui affectent la meilleur rendement d'extraction. Nous avons choisi de travailler avec un modèle de 2 intéraction et avec 3 interaction, basé sur le plan d'expériences de BoxBehnken.

- Les données statistiques de l'ANOVA ont été évaluées pour vérifier si le modèle est significatif et approprié.
- le meilleur facteur de corrélation R^2=96% est de 3 intéraction.
- D'après l'analyse en éliniminant les facteurs qui n'y pas un influencé sur le rendement.

Sous ChapitreV.1:



Résultats et discussions d'activités antibactériennes

D'après les romans de nos grands-mères disent que les feuilles d'arbre de néflier sont utilisées dans le traitement de la diarrhée, et sur base de cette hypothèse nous avons testé l'extrait de cette plant sur les bactéries qui chaussent la diarrhée à des fins de vérification.

IV.1.1-Activité antibactérienne :

L'étude de l'activité antibactérienne a été réalisée en utilisant la méthode en milieu gélosé sur disque. La lecture des résultats est effectuée en fonction de l'existence ou non des zones d'inhibition au tour des disques.

La sensibilité des espèces est estimée par la mesure du diamètre de zone d'inhibition autour des disques imprégné d'une concentration d'extrait méthanoïque de la plante en utilisant, à l'égard de deux souches bactériennes :
E. Coli et coliforme fécaux.

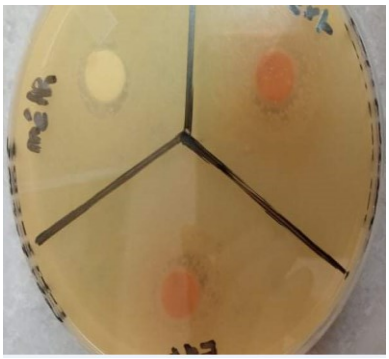


Figure N°1: le résultat de coliforme après 24h d'incubation à 37°

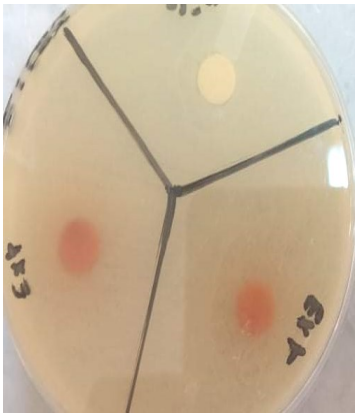


Figure N°2: le résultat E. coli type 1 après 24h d'incubation à 37.



Figure N°3: le résultat E. coli type 2 après 24h d'incubation à 37.*

Tableau N°1 : Représentation les zones d'inhibition des souches bactériennes

Souches	Zone d'inhibition (mm)
coliforme	14
E. Coli 1	8
E. Coli 2	5

- D'après ces résultats des tests d'activités antibactériennes on peut conclure que :

E. coli type 1 est plus sensible à l'extrait de plante avec un diamètre d'inhibition de 8 mm que le type 1.

Coliforme est plus sensible à l'extrait de plante avec une zone d'inhibition de 14 mm.

Dans notre étude, la bactérie coliforme est plus sensible aux extraits de la plante par rapport à la bactérie Escherichia coli.

Nous concluons que l'extrait de la plante est actif contre coliforme et moyennement actif contre Escherichia coli est donc contre le diarrhée



Conclusion Générale

Conclusion générale :

Mespilus germanica L est une plante très connue dans la zone méditerranéenne et utilisée par la population locale comme plante médicinale car elle présente un grand intérêt pharmacologique, mais malheureusement leur usage n'est pas très connu en Algérie.

C'est une source de métabolites secondaires, mais elle est encore sous-utilisée dans le domaine médical, notre étude a été réalisée sur leurs feuilles, ce qui nous a permis d'aboutir aux résultats suivants :

- D'après les résultats d'extraction, nous avons constaté que l'extrait méthanoïque à donner un taux d'extraction important cela montre la richesse des feuilles d'*mespilus germanica L*en métabolites (composé phénolique).
- Le rendement d'extraction de chaque essais à été calculé et en obtienne le meilleur rendement pour des conditions bien défini et de R=25.45%.
- la modalisation donnée un meilleure facteur de corrélation de R^2=93.3% aux 2 interaction et pour 3interaction en trouve R^2=96%.
- Les facture les plus affecté pour une extraction des polyphénols est suivant :

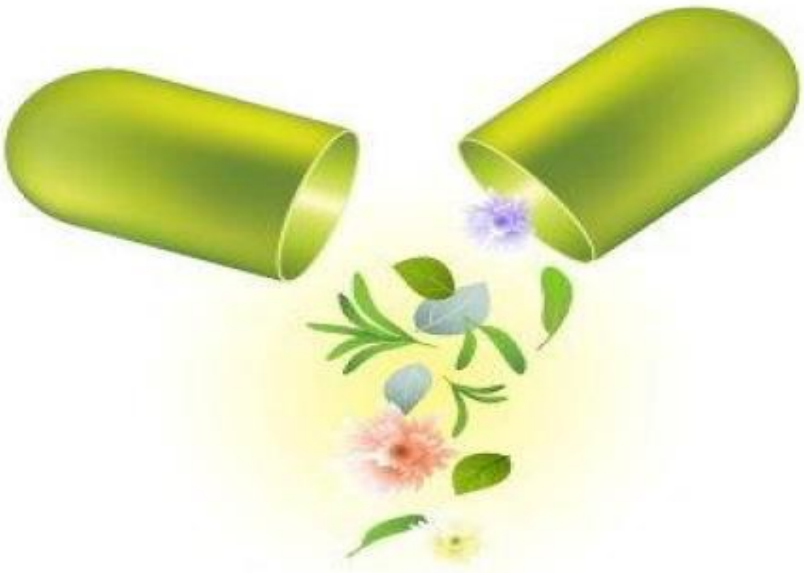
Polarité du solvant*temps / polarité du solvant*nombre de tours / température*temps / température*nombre de tours / volume de solvant*temps agitation / temps*temps agitation.

- En ce qui concerne l'activité antibactérienne, l'extrait a montré une forte activité contre le coliforme fécal et moyennement actif contre *Escherichia coli.*

Ce travail nous a permis d'avoir un aperçu général sur l'extraction, les teneurs en composés phénoliques, et l'activité antibactérienne des feuilles de *mespilus germanica L.*

Enfin, on est pressier les conditions ou les variable et on optimiser les caractéristique d'extraction des polyphénols de feuilles de néflier.

Il serait souhaitable d'aller plus loin en essayant d'étudier l'efficacité et la toxicité des extraits *in vivo* en essayant de réaliser d'autres tests antioxydants et anti-inflammatoires.



Référence Bibliographique

1-Référence bibliographique :

''A''

- **Amirouche L**., **2011.** Etude du pouvoir de sorption du Cuivre (Il), du Zinc (Il) et des polyphénols par les bentonites sous l'effet des irradiations micro-ondes. Mémoire de Magister : Université mouloud mammeri. Tiziouzou.101.
- **Ayache,A,Harmonier,j**.cours de statistique descriptive
- **Ayad M, Barka Ya,2013**,Modélisation des bétons ordinaires par des plans d'expériences

''B''

- **BARON J., OLLIVIER J.P. (1996);** Les bétons bases et données pour leur formulation, Edition Eyrolles, Paris, 522 p.
- **BE-1860 Meise.** Botanic Garden, Nieuwelaan 38Meise, Belgium 2 Fédération Wallonie-Bruxelles, rue A. Lavallée 1, BE-1080 Bruxelles, Belgium Cassification phylogénétique moléculaire de la flore vasculaire de Belgique, du Grand-Duché Luxembourg et des régions voisines Fabienne Van Rossum1, 2.
- **BELKADI Thanina,MAKKED Ludmila,2016.**Traitement des margines d'olives par Co précipitation en utilisant les plan d'expériences . Université Mouloud MAMMERI de Tizi-Ouzou.p13.
- **BENHADJI Khadidja.2016,** Etude du copolymère HBMA/EHA dans les solvants isotropes Optimisation du procédé par la technique du plan d'expériences, Université ABOU-BEKR BELKAID Tlemcen,69-70p
- **Benoist,D.Tourbier,Y.Germain-tourbier,S.1994.**plan d'expériences :construction et analyse ,Technique&documentation-lavoisier,Edition,paris .
- **Bouchra WAHADAME2006.** « Analyse et optimisation du fonctionnement de plies à combustible par la méthode des plans d'expériences ».21 novembre
- **BOUDAOUD. Z, RAHMOUNI.2003 Z, BREYSSE. D**. Etude des effets du cobroyage D'un clinker et du sable dunaire sur la broyabilité des liants et des caractéristiques D'un béton de sable. Actes du séminaire international GEOMAT'02. M'sila, Algérie
- **BOUDISSA F,2011**., Influence des radiations micro-onde sur l'extraction de l'huile de grignon d'olive imprégné de margine. Thèse de magister : chimie de l'environnement. Université Mouloud Mammeri,Tizi-Ouzou.
- **Bruneton J.1987.** éléments de phytochimie et de pharmacognosie, Ed. Tec&Doc lavoisier

''C''

- **Chahine BELGHIT,2009** « CONTRIBUTION A LA FORMULATION D'UN BETON AUTOPPLAÇANT A BASE DE MATERIAUX LOCAUX » : (effet du laitier granulé micronisé sur l'ouvrabilité).2009.
- **Charbrier, J.Y(2010)** plantes médicinales et formes d'utilisation en phutothérapie. Diplôme d'etat dedocteur en pharmacie. Université henri poincaré-nancy 1.165p

"D"

- **Djahra AB 2015.** Cours Phytochimie II 2éme Année Master. Université Echahid Hamma Lakhdar El Oued.

"E"

- **EHLACHE Mariya turkiya et ZID ELKHIR Leyla2020.** Etude enthnobotanique des plantes médicinales utilisées dans ladomaine cosmétique et dermatologique dans la région dem'sila. Université Mohamed boudiaf-M'sila(2021/2022)
- **EL Rhaffari L., Zaid A. (2004).** Pratique de la phytothérapie dans le sud-est du Maroc (Tafilalet). Un savoir empirique pour une pharmacopée rénovée. Origine des pharmacopées traditionnelles et élaboration des pharmacopées savantes, Edition de l'Institut de Recherche pour le Développement : Paris ; 293-318.
- **En, C., Amel, A., & Salim, K. (2016).** Analyse physico-chimique et morphologique de cinq variétés de néflier.
- **Er-Na, L., Guo-Dong, Z and Ling-Yi, k. (2009).**Chemical constituents from the leaves of Eriobotrya Japonica. Chin J Nat Med, 7(3) :190-192
- **Et, I., Des, I., Du, L., Du, F., Ou, B., & Vakinankaratra, R. D. E. (2015).** *Eriobotrya japonisas (ROSACEAE)* DE LA.

"J"

- **J. Goupy,2006 .**Les plans d'expériences, Revue Modulad
- **J. Goupy and L. Creighton,2000,** Introduction aux plans d'expérience, Dunod, Paris, p.304
- **J. Goupy 2013,** « Les Plans d'Expériences », 5ème Edition DUNOD, Paris
- **Jacques GOUPY**. Les plans d'experiences,p76.
- **Jean-yves 2010.**chabrier plantes médicinales et formes d'utilisation en phytothérapie.sciences pharmaceutique. FFHAL-01739123].

- **Jin et al. 2011 ; Al shaker et al. 20 Jin, O., Min, O.-J., Hyeon, A. -K., Kim, J.-K, Hum, Y.-B, Dong, Y.-R. (2011).** Effect of Eriobotrya japonica on Adipogenesis and Body Weight. Corresponding author; J. Korean Soc. Appl. Biol, Chem, 54(3):382-387.

''H''

- **H.Angellier ,2005,**Thèse doctorat ,Nono cristaux d'amidons de maïs cireux pour applications aux composites ,Université Grenoble 1.
- **Haoutis c , klalib R,2021**détermination des paramétres influençant sur le rendement hydroalcolique de métabolite secondaire de plante Puncia Grinatume L,p59.

''G''

- **G. Sadou, M. C.Sadou**, Les plans d'expériences et l'expérimentation à l'assurance
- **Goupy** .Modélisation par les plan d'expériences ,Technique de l'ingénieur ,mesures et contrôles .R 275,1-23.
- **Groupy ,J 2006** ,.Creighton,L,introduction aux plan d'expériences .3E Edition ;DUNOD. Paris .

''K''

- **Karam,S.2004**.Application de la méthodologie des plan d'expérience et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt .Thèse doctorat de Électroniques des hautes fréquences et optoélectroniques .faculté de des sciences et Techniques,p14.

''L''

- **LINDER R.2005,** Les plans d'expériences un outil indispensable à l'expérimentateur. Presses de l'école nationale des ponts et chaussées, Paris.

''M''

- **M.D. Miara, M. Ait Hammou², S. Hadjadj Aoul 2013**. spring-verag Franc Laboratoire d'écologie, département de biologie, faculté de la science, université oran-sénia, Algérie13
- **March 4, 2018.** | Author: Anonymous | Category: Science, Biologie, Botanique, Plante.

- **Melle MOUSSOUS Meryem 2019/2020** Activité anti-inflammatoire des polyphénols du *Salvia officinalis* L. l'obtention du diplôme : Master Académique en Biologie Université Mohammed-Seddik Benyahia – Jijel.
- **Melle Baala Oumnia Mme Mermoul Amina (2020/2021)** Etude photochimique des extraits d'une plante médicinale : *Eriobotrya japonica* Lindl. Diplôme de Master Université des Frères Mentouri Constantine1 Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.
- **Melle Baala Oumnia Mme Mermoul Amina (2020/2021)** Etude photochimique des extraits d'une plante médicinale : *Eriobotrya japonica* Lindl **Diplôme de Master**. Université des Frères Mentouri Constantine1 Faculté des Sciences de la
- **Melle Latreche malika & Melle Sadoudi zakia 2017.** Etude Ethnobotanique et Caractéristique Phytochimique des Plantes Médicinales a effet Antimicrobien Mémoire de Master Académique en Biologie Université M'HAMED BOUGARA DE BOUMERDES
- **Mlle LOUFFAR Imen Mlle MAHDJOUB Sarra 2016** Enquête ethnobotanique sur les plantes médicinales dans la wilaya de Boumerdes Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie Université Mouloud MAMMERI De Tizi-Ouzou Faculté de Médecin Département de Pharmacie.
- **Moreau B 2003.** maitre de conférences de pharmacognosie à la faculté de pharmacie de nancy travaux dirigés et travaux pratiques de pharmacognosie de « ème année doctorat de pharmacie.

''O''

- **Orwa C., Mutua A., KindtR., Jamnadass R et Anthony S. (2009).** AgroforestreeDatabase :a tree reference and selesction d=guide version . project=tela&locale=fr&levell=donnees
- **Oughlis-Hammache F.2006,** Modélisation et optimisation du procédé d'adsorption du phénol sur du charbon actif dans un réacteur tubulaire à lit fixe, Mémoire de Magister, Université de Bejaia (Algérie),

''R''

- **Redhouane LOMBARKIA.2012**. Etude simulation et expérimentation du comportement mécanique des couvercles des boites ETUDE,

- **Rami H, Maachou H,2019** Formulation d'une crème émulsion à base huile d'olive par plans d'expériences ,p77.

''ﻫ''

- **Sana RAHAL Lamia RAHAL 2018/2019.** Activité anti-inflammatoire des polyphénols du *Salvia officinalis* L. MÉMOIRE DE MASTE Université Mohamed Khider de Biskra Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie Département des sciences de la nature et de la vie.
- **SIER. (1993) ;** Informations et techniques. 1993. n°6.

''ﺕ''

- **Taniguchi, S., Imayoshi, Y., Kobayashi, E., Takamatsu, Y., Ito, H., Hatano, T., Sakagami, H., Tokuda, H., Nishino, H., Sugita, D., Shimura, S., & Yoshida, T. (2002a)**. Production of bioactive triterpenes by Eriobotrya japonica calli. *Phytochemistry*, *59*(3), 315‑323. https://doi.org/10.1016/S0031-9422 (01)00455-1

tela botanica http://WWW.tela –botanica.org/ndex.php ?

- **TINSSON W.2010,** Plans d'expériences : constructions et analyse statistiques.

Mathématiques et Applications, Vol. 67, Springer, , 532 p.

2-Références des sites :

[1]- Https://www.aujardin.info/plantes/famille-rosaceae.php?amp

[2]- Http://www.jouy-aux-arches.fr/Neflier.pdf

[3]- Https://www.aujardin.info/plantes/familles.php

[4]-
Http://gentiana.org/sites/commun/generique/fckeditor/File/Systematique/rosidae/rosales.pdf

[5]-Https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Rosaceae.html

[6]- https://www150.statcan.gc.ca/n1/edu/power-pouvoir/ch12/5214891-fra.htm

Observation	polarité du solvant	TEMPERATURE	volume de solvant	TEMPS	TEMPS AGITATION	NOMBRE DE TOURS
Obs1	60	20	10	24	10	4500
Obs2	90	20	10	24	10	4500
Obs3	60	40	10	24	10	4500
Obs4	90	40	10	24	10	4500
Obs5	60	30	5	24	10	4500
Obs6	90	30	5	24	10	4500
Obs7	60	30	15	24	10	4500
Obs8	90	30	15	24	10	4500
Obs9	60	30	10	6	10	4500
Obs10	90	30	10	6	10	4500
Obs11	60	30	10	42	10	4500
Obs12	90	30	10	42	10	4500
Obs13	60	30	10	24	5	4500
Obs14	90	30	10	24	5	4500
Obs15	60	30	10	24	15	4500
Obs16	90	30	10	24	15	4500
Obs17	60	30	10	24	10	3000
Obs18	90	30	10	24	10	3000
Obs19	60	30	10	24	10	6000
Obs20	90	30	10	24	10	6000
Obs21	75	20	5	24	10	4500
Obs22	75	40	5	24	10	4500
Obs23	75	20	15	24	10	4500
Obs24	75	40	15	24	10	4500
Obs25	75	20	10	6	10	4500
Obs26	75	40	10	6	10	4500
Obs27	75	20	10	42	10	4500
Obs28	75	40	10	42	10	4500
Obs29	75	20	10	24	5	4500
Obs30	75	40	10	24	5	4500
Obs31	75	20	10	24	15	4500
Obs32	75	40	10	24	15	4500
Obs33	75	20	10	24	10	3000
Obs34	75	40	10	24	10	3000
Obs35	75	20	10	24	10	6000
Obs36	75	40	10	24	10	6000
Obs37	75	30	5	6	10	4500
Obs38	75	30	15	6	10	4500
Obs39	75	30	5	42	10	4500

Obs40	75	30	15	42	10	4500
Obs41	75	30	5	24	5	4500
Obs42	75	30	15	24	5	4500
Obs43	75	30	5	24	15	4500
Obs44	75	30	15	24	15	4500
Obs45	75	30	5	24	10	3000
Obs46	75	30	15	24	10	3000
Obs47	75	30	5	24	10	6000
Obs48	75	30	15	24	10	6000
Obs49	75	30	10	6	5	4500
Obs50	75	30	10	42	5	4500
Obs51	75	30	10	6	15	4500
Obs52	75	30	10	42	15	4500
Obs53	75	30	10	6	10	3000
Obs54	75	30	10	42	10	3000
Obs55	75	30	10	6	10	6000
Obs56	75	30	10	42	10	6000
Obs57	75	30	10	24	5	3000
Obs58	75	30	10	24	15	3000
Obs59	75	30	10	24	5	6000
Obs60	75	30	10	24	15	6000
Obs61	75	30	10	24	10	4500

Annexe 1 : Tableaux complète des valeurs réelle des variables choisis pour l'extraction

observation	Ordre du run	répétition	Masse1	Masse2	Rendement
Obs1	1	1	22,33	22,68	17,5
Obs2	2	1	22,704	23,125	21,05
Obs3	3	1	22,075	22,427	17,6
Obs4	4	1	22,32	22,657	16,85
Obs5	5	1	22,089	22,137	2,4
Obs6	6	1	23,183	23,239	2,8
Obs7	7	1	22,037	22,47	21,65
Obs8	8	1	22,725	23,09	18,25
Obs9	9	1	22,1	22,41	15,5
Obs10	10	1	22,75	23,06	15,5
Obs11	11	1	21,856	22,109	12,65
Obs12	12	1	22,315	22,709	19,7
Obs13	13	1	22,063	22,311	12,4
Obs14	14	1	22,106	22,283	8,85
Obs15	15	1	22,749	23,114	18,25
Obs16	16	1	22,074	22,359	14,25

Obs17	17	1	22,695	22,981	14,3
Obs18	18	1	22,705	22,866	8,05
Obs19	19	1	22,072	22,283	10,55
Obs20	20	1	22,106	22,38	13,7
Obs21	21	1	22,033	22,161	6,4
Obs22	22	1	21,866	21,961	4,75
Obs23	23	1	22,321	22,83	25,45
Obs24	24	1	22,766	23,129	18,15
Obs25	25	1	21,98	22,45	23,5
Obs26	26	1	23,37	23,56	9,5
Obs27	27	1	23,174	23,427	12,65
Obs28	28	1	21,992	22,296	15,2
Obs29	29	1	22,029	22,319	14,5
Obs30	30	1	22,041	22,311	13,5
Obs31	31	1	22,18	22,49	15,5
Obs32	32	1	23,189	23,509	16
Obs33	33	1	22,768	23,187	20,95
Obs34	34	1	22,016	22,258	12,1
Obs35	35	1	22,753	23,148	19,75
Obs36	36	1	22,695	22,942	12,35
Obs37	37	1	22,034	22,091	2,85
Obs38	38	1	22,14	22,53	19,5
Obs39	39	1	22,074	22,074	0
Obs40	40	1	21,89	22,254	18,2
Obs41	41	1	22,036	22,036	0
Obs42	42	1	22,117	22,603	24,3
Obs43	43	1	23,24	23,311	3,55
Obs44	44	1	21,93	22,317	19,35
Obs45	45	1	21,85	21,894	2,2
Obs46	46	1	22,131	22,537	20,3
Obs47	47	1	22,117	22,149	1,6
Obs48	48	1	22,693	23,085	19,6
Obs49	49	1	22,029	22,405	18,8
Obs50	50	1	23,203	23,494	14,55
Obs51	51	1	22,142	22,395	12,65
Obs52	52	1	21,966	22,313	17,35
Obs53	53	1	23,207	23,45	12,15
Obs54	54	1	22,039	22,344	15,25
Obs55	55	1	22,136	22,426	14,5
Obs56	56	1	22,078	22,364	14,3
Obs57	57	1	22,738	22,986	12,4
Obs58	58	1	21,917	22,195	13,9

Obs59	59	1	22,081	22,419	16,9
Obs60	60	1	21,907	22,231	16,2
Obs61	61	1	22,028	22,306	13,9

Annexe 2 :table complete des valeurs de rendement d'extraction.