Valorisation de quelques plantes médecinales [médicinales] issues de la flore tunisienne : extraction par CO2 supercritique

Abdelkarim Aydi

▶ **To cite this version:**

Abdelkarim Aydi. Valorisation de quelques plantes médecinales [médicinales] issues de la flore tunisienne : extraction par CO2 supercritique. Génie des procédés. Université de Lorraine; Institut National des Sciences Appliquées et de Technologie (Tunisie), 2014. Français. NNT : 2014LORR0386 . tel-02461366

HAL Id: tel-02461366

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-02461366v1

Submitted on 17 Dec 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE DE LORRAINE
UNIVERSITE DE CARTHAGE

THESE EN COTUTELLE

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Lorraine

Spécialité : Génie des procédés et des produits
Ecole doctorale : Ressources, Procédés, Produits, Environnement

Spécialité : Chimie Appliquée
Ecole doctorale : Chimie Industrielle

VALORISATION DE QUELQUES PLANTES MEDECINALES ISSUES DE LA FLORE TUNISIENNE : EXTRACTION PAR CO_2 SUPERCRITIQUE

Laboratoire Réactions et Génie des Procédés UMR CNRS 7274 (LRGP) -Nancy-France

Laboratoire Matériaux Molécules et Application (LMMA)-La Marsa-Tunisie

ABDELKARIM AYDI

Soutenue publiquement le 16 Décembre 2014 devant le jury composé de :

Rapporteurs	
M. Mehrez Romdhane, Pr.	Université de Gabès
M. Olivier Boutin, Pr.	Université Aix Marseille
Examinateurs	
Mme. Danielle BARTH, Pr., directeur.	Université de Lorraine
M. Mohammed Manef Abderraba, Pr., directeur.	Université Tunis Carthage
Invités	
Mme. Narjes Batis, Pr.	Université Tunis Carthage
M. François Lessage, MCF	Université de Lorraine

DEDICACES

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut. Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance. Ainsi, c'est tout simplement que je dédie ce modeste travail à :

Mon père :

Je ne trouverai jamais de mots pour t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et surtout pour ta présence dans mes moments le plus difficiles, et si j'en suis arrivé là ce n'est que grâce à toi mon père. Tu m'as toujours conseillé et orienté dans la voie de l'honneur, ta droiture, conscience et amour pour ta famille me serviront d'exemple dans la vie. Ce modeste travail parait bien dérisoire pour traduire une reconnaissance infinie envers un merveilleux père dont j'ai la fierté d'être son fils.

Puisse ce jour être la récompense de tous les efforts et l'exaucement de tes prières tant formulées.

Je t'aime très fort

A la mémoire de ma mère :

Qui ont été toujours dans mon esprit et dans mon cœur, je vous dédie aujourd'hui ma réussite.

Que Dieu, le miséricordieux, vous accueille dans son éternel paradis. **Je t'aime beaucoup**

Ma chère femme :

Avec ton comportement agréable, je me sens à l'apogée des honneurs et imbattable. La compréhension, la clarté, la chasteté, la transparence, la bonne entente et la sincérité dont tu as toujours fait preuve, m'ont tonifié moralement et physiquement tout au long de mes études.

Merci beaucoup. Je te souhaite une florissante santé, un prospère avenir et une vie couronnée de succès.

Je te dédie ce travail en témoignage de mon très grand amour.

A mon petit Mohammed Anas :

C'est à toi mon adorable ange, ma joie, mon petit trésor que papa dédit ce travail pour te dire que tu resteras pour toujours le rayon du soleil qui égaye ma vie. Je t'aime mon bébé et je te souhaite tout le bonheur du monde. **Que Dieu te protège**

A mes sœurs : Saida, Naima, Hnia, Aziza, Latifa, Nejia et à la mémoire de ma sœur Mbarka.

Aucun mot ne saura exprimer tout l'amour que j'ai pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes souhaits de bonheur et de prospérité. **Que Dieu vous protège.** Je vous dédie ce travail en témoignage de mon grand amour et ma profonde affection. **Que Dieu vous procure bonne santé et longue vie.**

A mes encadreurs :

Votre aide et vos conseils constituaient les facteurs cruciaux de la réussite de ce travail.

Vous êtes la source de mon savoir et vous m'avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance.

Je vous dédie ce travail en témoignage de mon très grand respect.

Que Dieu vous procure bonne santé et longue vie.

A tous ceux qui me sont chers et que j'ai omis de citer.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur Mehrez Romdhane,

De l'Université de Gabès,

Qui me fait l'honneur d'accepter de rapporter et de juger cette thèse.

Avec toute ma gratitude et mes hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur Olivier Boutin,

De l'Université Aix Marseille,

Qui me fait l'honneur de rapporter et de juger ce travail.

Sincères remerciements.

A Madame le Professeur Narjes Batis,

De l'Institut National des Sciences Appliquées et de la Technologie,

Qui me fait l'honneur de juger ce travail et de faire partie de mon jury de thèse.

A Monsieur le Maître de Conférences François Lessage,

De l'Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimique,

Qui me fait l'honneur de juger ce travail.

A Madame le Professeur Danielle Barth,

De l'Ecole Européenne d'Ingénieurs en Génie des Matériaux Nancy-France,

Qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail.

En témoignage de ma reconnaissance pour son aide, sa disponibilité et sa gentillesse. Sincères remerciements.

A Monsieur le Professeur Mohamed Manef Abderrabba,

De l'Institut Préparatoire des Etudes Scientifiques et Techniques (IPEST).

Qui m'a fait l'honneur d'encadrer ce travail.

Et qui m'accordé sa confiance en m'intégrant dans son équipe. Ses qualités scientifiques et sa passion pour la chimie m'ont permis de mener à bien ce travail de thèse.

A Monsieur le Professeur Christian Fonteix

De l'Université de Lorraine. Pour sa collaboration et son aide pour la modélisation.

Aux techniciens du LRGP : Hervé Simonaire et Philippe Arnoux

Au technicien du LMMA : Mr. Jerbibi Chokri

Pour leurs gentillesses et leurs conseils pour mener à bien mes activités de recherche.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Propriétés des gaz, des liquides et des fluides supercritiques [62] … Page 15
Tableau 2: Les coordonnées critiques de certains composants purs [67] …… Page 16
Tableau 3: Matrice de Doehlert…… Page 29
Tableau 4: Matrice de Doehlert à 3 facteurs…… Page 30
Tableau 5: Matrice de Doehlert à 4 facteurs…… Page 31
Tableau 6: Caractéristiques de l'extracteur utilisé…… Page 49
Tableau 7: Facteurs étudiés et leurs niveaux pour le plan de Doehlert…… Page 51
Tableau 8: Facteurs étudiés et leurs niveaux pour le plan composite central (CCD)…… Page 51
Tableau 9: La matrice d'expériences (en variables codées) du plan de Doehlert à cinq facteurs…… Page 52
Tableau 10: La matrice d'expériences (en variables codées) du plan CCD à quatre facteurs…… Page 53
Tableau 11: Programme de température de GC-FID…… Page 56
Tableau 12: Préparation des différents échantillons…… Page 61
Tableau 13: Langage sensoriel utilisé pour l'évaluation descriptive des yaourts. Page 73
Tableau 14: Analyse des points expérimentaux du plan de Doehlert existant par rapport à un plan factoriel complet…… Page 77
Tableau 15: Etude du type d'erreur expérimentale…… Page 78
Tableau 16: Analyse de la variance d'erreur expérimentale…… Page 79
Tableau 17: Estimation des coefficients du modèle linéaire…… Page 79
Tableau 18: Matrice de validation…… Page 81
Tableau 19: Matrice de répétition…… Page 81
Tableau 20: Matrice d'identification…… Page 82
Tableau 21:Estimation des coefficients du modèle final……... Page 83
Tableau 22: Test de Fisher Snedecor……. Page 85
Tableau 23: Composition de l'huile essentielle des fleurs de myrte et d'extrait de CO_2…… Page 92
Tableau 24: Matrice d'Expériences……... Page 95
Tableau 25: Caractéristiques du problème…… Page 96
Tableau 26: Analyse de la régression…… Page 97
Tableau 27: Estimations et statistiques des coefficients…… Page 98
Tableau 28: Caractéristiques du maximum de l'optimum global…… Page 102
Tableau 29: Coordonnées de l'optimum global…… Page 102
Tableau 30: Détermination du débit de solvant et de la quantité de la matière première à différentes capacités d'extracteur…… Page 104
Tableau 31: Coût de fonctionnement pour les unités d'extraction à différentes Pressions…… Page 105
Tableau 32: Coût de la matière première annuelle avec une perte de 2 %..... Page 105
Tableau 33: Coût annuel de la perte en CO_2…….. Page 106
Tableau 34: Coût direct du produit…… Page 106
Tableau 35: Coût fixe et coût général…… Page 107
Tableau 36: Estimation du Coût d'un kg d'extrait de *Pistacia* en Tunisie…… Page 107
Tableau 37: Variation de la composition chimique en fonction des conditions opératoires…… Page 110

Tableau 38: Tableau de la variance expliquée : méthode d'extraction des facteurs et analyse en composants principales……... Page 111
Tableau 39: Pourcentage d'abondance de chaque composé dans chaque classe... Page 111
Tableau 40: Validation et analyse des modèles choisis…… Page 113
Tableau 41: Tableau D'ANNOVA pour les différents modèles……... Page 115
Tableau 42: Etude statistique des modèles réduits…… Page 116
Tableau 43: Estimation de la constante de dégradation de β-carotène pour les différents échantillons et à différentes concentrations dans le produit……..... Page 120
Tableau 44: Estimation des de la constante de cinétique de formation des peroxydes pour les différents échantillons et à différentes concentrations dans le produit…… Page 124
Tableau 45: Les valeurs de la durée de la phase de latence λ (min) et le taux de décroissance μ (min-1), de deux types d'extrait…… Page 130
Tableau 46: Les paramètres (λ (min) ; μ (min^{-1}) ; acidité initiale) relatifs aux différents échantillons…… Page 131
Tableau 47: Taux de décroissances de la teneur en sucre réducteur des différents échantillons…… Page 133
Tableau 48: Moyenne des notes attribuées par les panélistes au différent échantillon…… Page 134
Tableau 49: Profils relatifs aux critères d'évaluation avant cuisson…… Page 140
Tableau 50: Profils relatifs aux critères d'évaluation après cuisson…… Page 141
Tableau 51: Conditions opératoires des expériences de la modélisation selon Sovova temps statique = 30 minutes, masse volumique de la plante=395 $kg.m^{-3}$ Page 150
Tableau 52: Résultats de la modélisation…… Page 152

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Fleur de Myrte…… Page 8
Figure 2: Fruit de Myrte……... Page 8
Figure 3: Diagramme de phase de CO_2 pur [68]…….. Page 16
Figure 4: Définition du domaine d'étude par l'expérimentateur [73] …… Page 18
Figure 5: Définition de la surface de réponse [73]……... Page 19
Figure 6: Plan composite pour deux facteurs……... Page 28
Figure 7: Plan de Doehlert…… Page 29
Figure 8: Disposition des points expérimentaux d'un plande Doehlert pour trois facteurs…… Page 30
Figure 9: Allure générale d'une courbe de cinétique d'extraction par un fluide supercritique dans un milieu poreux…… Page 33
Figure 10: Montage de l'hydrodistillation (appareil de Clevenger) …… Page 47
Figure 11: Schéma de l'installation d'extraction dynamique (Conditions limites d'extraction T=80°C, P=250bars) …… Page 48
Figure 12: Schéma de l'extracteur en inox…… Page 50
Figure 13: Chromatographe Young Lin……... Page 56
Figure 14: Structure chimique du radical DPPH…… Page 59
Figure 15: Schéma réactionnel de l'oxydation d'un acide insaturé…… Page 62
Figure 16: Schéma réactionnel de l'oxydation d'un acide carboxylique en présence d'un peroxyde…… Page 62
Figure 17: Vue schématique du dispositif d'un test Rancimat…… Page 64
Figure 18: Principe de fonctionnement d'un spectromètre infra-rouge……... Page 71
Figure 19: Espace expérimental formé par la pression et la masse de la plante… Page 76
Figure 20: Espace expérimental formé par le temps de contact et la température... Page 76
Figure 21: Espace expérimental formé par la pression et la température…… Page 77
Figure 22: Espace expérimental formé par la pression et le débit du CO_2……... Page 77
Figure 23: Variation de l'écart type en fonction de la moyenne pour chaque répétition……... Page 78
Figure 24: Variation du déterminant de la matrice de Fisher en fonction du nombre d'itérations……... Page 80
Figure 25: Variation des trois types de variance en fonction des itérations…… Page 83
Figure 26: Représentation de la corrélation totale entre les paramètres du modèle. Page 84
Figure 27: Représentation des résultats du Test de Student…… Page 86
Figure 28: Analyse des variances avant l'étude préliminaire……... Page 87
Figure 29: Résultats du Test de Student avant l'étude préliminaire…… Page 87
Figure 30: Variation de la réponse - rendement dans le plan : Pression(X_1), Masse de la matière végétal(X_2) : FACTEURS FIXES : Température = 50 °C ; Temps de contact = 30 minutes ; Débit de CO_2 = 0,9kg/h……... Page 88
Figure 31 : Variation de la réponse - rendement dans le plan : Température(X_3), Pression(X_1), FACTEURS FIXES : Masse de la matière végétale = 30 g ; Temps de contact = 30 minutes ; Débit de CO_2 = 0,9 kg/h……... Page 88
Figure 32. Variation de la réponse - rendement dans le plan : Temps de contact (X_4), pression(X_1) : FACTEURS FIXES : Masse de la matière végétale=30g Température= 50°C; Débit de CO_2 = 0,9 kg/h……..…….. Page 89
Figure 33: Variation de la réponse - rendement dans le plan : pression(X_1), débit de CO_2 (X_5) : FACTEURS FIXES : Masse de la matière végétale = 30 g ; Température= 50°C; Temps de contact = 30 minutes…….. Page 90

Figure 34: Activité antioxydante de l'huile essentielle de myrte…… Page 93
Figure 35: Activité antioxydante de l'extrait par CO_2 et de BHT…… Page 94
Figure 36. Courbe d'isoréponse : granulométrie (X_2, µm) en fonction de la masse volumique ($X_{1,\ kg.m^{-3}}$) pour le rendement Y_1…… Page 100
Figure 37. Courbe d'isoréponse : granulométrie (X_2, µm) en fonction de la masse volumique ($X_{1,}\ kg.m^{-3}$) pour le rendement Y_2……..... Page 100
Figure 38. Courbe d'isoréponse : débit de CO_2 (X_3, $kg.h^{-1}$) en fonction de la granulométrie ($X_{2,}$ µm) pour le rendement Y_1…… Page 100
Figure 39. Courbe d'isoréponse : débit de CO_2 (X_3, $kg.h^{-1}$) en fonction de la granulométrie ($X_{2,}$ µm) pour le rendement Y_2…… Page 101
Figure 40. Courbe d'isoréponse : la masse volumique ($X_{1,}\ kg.m^{-3}$) en fonction du temps statique (X_4, min) pour le rendement Y_1……... Page 101
Figure 41. Courbe d'isoréponse : la masse volumique ($X_{1,}\ kg.m^{-3}$) en fonction du temps statique (X_4, min) pour le rendement Y_2…… Page 101
Figure 42: Variation du coût d'un kilogramme d'extrait pour différentes installations et pour les trois conditions étudiées…… Page 108
Figure 43: Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre à différentes concentrations en fonction des jours d'entreposage…… Page 118
Figure 44: Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre avec différentes concentrations d'extrait de *Pistacia* par CO_2 en fonction des jours d'entreposage…… Page 118
Figure 45: Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre avec différentes concentrations de l'huile essentielle de *Pistacia* en fonction des jours d'entreposage…… Page 119
Figure 46: Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre avec différentes concentrations d'huile essentielle de myrte en fonction des jours d'entreposage…… Page 119
Figure 47: Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre avec différentes concentrations de l'extrait de myrte par CO_2 en fonction des jours d'entreposage…… Page 119
Figure 48: Variation de la vitesse de dégradation du β-carotène en fonction de sa concentration dans l'huile de beure…… Page 121
Figure 49: Variation de la vitesse de dégradation du β-carotène en fonction de la concentration des différents extraits dans le produit…… Page 122
Figure 50: Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration de β-carotène dans le produit…… Page 123
Figure 51: Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration d'extrait de *Pistacia* dans le produit…… Page 123
Figure 52: Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration de l'huile essentielle de *Pistacia*…… Page 123
Figure 53: Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration de l'huile essentielle de Myrte…… Page 123
Figure 54: Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration d'extrait de Myrte dans le produit…… Page 124
Figure 55: Variation de la vitesse de formation de peroxyde en fonction de la concentration des extraits…… Page 125
Figure 56: Spectre d'absorbance du β-carotène pris à différentes dates d'entreposage…… Page 126
Figure 57: Spectre d'absorbance d'extrait de *Pistacia* pris à différentes dates d'entreposage…… Page 127

Figure 58: Variation du temps d'induction pour les différents échantillons pour une concentration de 500 ppm…… Page 128
Figure 59: Variation de pH pour l'échantillon de myrte au cours de la fermentation……. Page 129
Figure 60: Variation de pH pour les échantillons du vin cours de la fermentation. Page 129
Figure 61: Variation de l'acidité pour les échantillons de myrte au cours de la fermentation……. Page 130
Figure 62: Variation de l'acidité pour les échantillons du vin au cours de la fermentation…….. Page 130
Figure 63: La variation de (S-S0) /10 en fonction du temps pour les différents échantillons enrichis en eau florale…….. Page 132
Figure 64: La variation de (S-S0)/10 en fonction du temps pour les différents échantillons enrichis en vin concentré…….. Page 132
Figure 65**.** Profil sensoriel des échantillons de yaourt enrichis d'extrait de vin et d'eau florale de myrte ……. Page 135
Figure 66: Variation de la teneur en Azote Basique Volatil Total (ABVT) des filets de sardine au cours de stockage réfrigéré (4°C) …….. Page 137
Figure 67: Variation de l'indice de peroxyde des lipides des filets de sardine au cours de stockage réfrigéré (4°C) ……. Page 138
Figure 68: Variation de l'indice de rétention d'eau des filets de sardine au cours de stockage réfrigéré (4°C)…….. Page 139
Figure 69: Profils sensoriels (odeur/ aspect) des différents échantillons du poisson avant cuisson…….. Page 140
Figure 70: Profils sensoriels (texture) des différents échantillons du poisson après cuisson……. Page 141
Figure 71: Evolution du rendement expérimental et théorique à différentes pressions……... Page 153
Figure 72: Evolution du rendement expérimental et théorique à différentes températures……. Page 154
Figure 73: Evolution du rendement expérimental et théorique à différents débits de CO_2…….. Page 155
Figure 74: Evolution du rendement expérimental et théorique à différentes tailles de particules…….. Page 156

TABLE DES MATIERES

Dédicaces……... i
Remerciements……... iii
Liste des tableaux……... v
Liste des figures…… vii
Tables des matières…… x
Notations…… xv
Introduction générale……. Page 1
Page 4

PARTIE A. ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE……
I. Le Myrte…….. Page 5
I.1. Origine et historique……. Page 5
I.2. Variétés de myrte……. Page 5
I.3. Intérêts thérapeutiques du myrte…….. Page 5
I.4. Les huiles essentielles…….. Page 6
I.4.1. Définition……... Page 6
I.4.2. L'huile essentielle de myrte…….. Page 6
I.4.2.1. L'huile essentielle de la feuille……... Page 6
I.4.2.2. L'huile essentielle du fruit…….. Page 7
I.4.2.3. L'huile essentielle de la fleur……... Page 7
II. Le pistachier lentisque……... Page 8
II.1. Origine…… Page 8
II.2. Caractéristiques botaniques…….. Page 8
II.3. Usages traditionnels décrits dans le monde Magrébin…… Page 9
II.3.1. La racine……... Page 9
II.3.2. L'écorce……... Page 9
II.3.3. Oléorésine ou gomme…….. Page 9
II.3.4. Les feuilles……... Page 9
II.3.5. Fruits, huiles de fruits……... Page 9
II.4. Composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus*……. Page 9
III. Activités thérapeutiques…… Page 10
III.1. Activité antioxydante……. Page 11
III.1.1. Les antioxydants et le stress oxydatif……. Page 11
III.1.2. Utilité alimentaire des antioxydants……... Page 12
III.1.3. Propriétés……. Page 12
III.1.4. Antioxydants synthétiques……... Page 13
III.2. Antioxydants naturels……. Page 13
III.2.1 Particularité des antioxydants naturels…… Page 13
III.2.2. Effet antioxydant naturel pour un aliment meilleur……. Page 13
IV. Procédés d'extraction des huiles essentielles……... Page 14
IV.1. Méthodes d'extractions conventionnelles…….. Page 14
IV.2. Extraction par CO_2 supercritique…… Page 15
V. Modélisation de l'extraction des huiles essentielles en milieu supercritique Page 17
V.1. Méthode des plans d'expériences……... Page 17
V.2. Réponse, facteur, niveaux…… Page 18
V.3. Domaine d'étude, surface de réponse……. Page 18
V.4. Notion de modèle mathématique……. Page 19

V.4.1. Evaluation de la qualité de l'ajustement…….. Page 20
V.4.2. Validation du modèle…… Page 20
V.4.3. Variables codées…….. Page 22
V.5. Systèmes d'équation……... Page 22
V.6. Dispersion des coefficients……. Page 23
V.7. Critères de D-optimalité……... Page 23
V.8. Utilisations possibles de la méthode des plans d'expériences…… Page 25
V.9. Différents plans d'expériences…… Page 26
V.9.1. Plan factoriels complets…… Page 26
V.9.2. Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux 2^{k-q}……... Page 26
V.9.3. Matrice des aliases…… Page 26
V.9.4. Plans de Plackett et Burman……. Page 27
V.9.5. Tables de Tagauchi……... Page 27
V.9.6. Plans de Koshal…… Page 27
V.9.7. Plans composites…….. Page 28
V.9.8. Plans de Doehlert……..... Page 28
VI. Modélisation avec des modèles de reconnaissances…… Page 32
VI.1. Courbe de cinétique d'extraction…… Page 32
VI.2. Rendement d'extraction……. Page 34
VI.3. Modélisation mathématique…….. Page 34
V. Conclusion……. Page 44
Page 46

Partie B. Matériels et méthodes……...
I. Matériel végétal……... Page 47
II. Méthodes d'extraction…… Page 47
II.1. L'hydrodistillation…….. Page 47
II.2. Extraction par CO_2 Supercritique……... Page 48
II.2.1. Présentation de matériels…….. Page 48
II.2.1.1. Caractéristiques de l'extracteur……. Page 48
II.2.2.2. Conduite du procédé…… Page 49
II.2.2.3. Remplissage du réceptacle……... Page 49
III. Le plan d'expériences…… Page 50
III.1. Le domaine d'étude……... Page 51
III.2. Matrices d'étude des facteurs…… Page 52
III.2.1. Matrice de Doehlert…… Page 52
III.2.2. Matrice de CCD…… Page 53
III.3. Le modèle mathématique……. Page 54
IV. Analyse chimique des huiles essentielles et des extraits……. Page 55
IV.1. Conditions analytiques des composés volatils…….. Page 55
IV.2.1. Identification des composés volatils…….. Page 56
IV.2.1.1. Co-chromatographie…… Page 56
IV.2.1.2. Couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse.. Page 56
IV.2.1.3. Indice de Kovàts……. Page 57
IV.2.2. Quantification……. Page 57
V. Activité antioxydante……. Page 58
V.1. Principe de la méthode……. Page 58
V.2. Préparation des échantillons et protocole utilisé……. Page 59
VI. Etude de la stabilité oxydative d'huile de beurre additionnée des extraits de *Pistacia* et de Myrte……. Page 60
VI.1. Préparation des échantillons…….. Page 60

VI.2. Détermination du degré d'oxydation……. Page 61
VI.2.1. Indice de peroxyde……. Page 61
VI.2.2. Mode opératoire…….. Page 62
VI.3. Test d'oxydation accéléré ou détermination de la stabilité à l'oxydation ou encore test au Rancimat…….. Page 63
VI.3.1. Principe……... Page 63
VI.3.2. Mode opératoire…….. Page 63
VII. L'huile essentielle de myrte, conservateur des produits de la pêche (filet de sardine) ……. Page 64
VII.1. Introduction……... Page 64
VII.2. Préparation des échantillons…….. Page 64
VII.3. Préparation de la solution d'enrobage……... Page 65
VII.3.1 Détermination de l'indice de peroxyde Ip…… Page 65
VII.3.1.1 Principe…… Page 65
VII.3.1.2 Procédure……. Page 65
VII.3.2 Détermination de l'Azote Basique Volatil Total…… Page 66
VII.3.2.1. Principe de la méthode utilisée…… Page 66
VII.3.2.2 Mode opératoire…….. Page 66
VII.3.2.2.1. Préparation de l'échantillon…….. Page 66
VII.3.2.2.2. Distillation à la vapeur d'eau……... Page 66
VII.3.2.2.3. Titrage……. Page 66
VIII.3.2.2.4. Essai à blanc…….. Page 67
VII.3.2.2.5. Calcul de la concentration en ABVT…….. Page 67
VII.3.3. Détermination de la capacité de rétention d'eau…… Page 67
VII.4. Analyses sensorielles……... Page 67
VIII. Aromatisation de Yaourt par l'ajout de l'eau florale de Myrte fleur… Page 68
VII.1. Introduction…….. Page 68
VIII. 2. Préparation des échantillons……... Page 68
VIII. 3. Analyses physico-chimique de la matière première « lait »…….. Page 69
VIII. 3.1. Détermination du pH (NF V05-108,1970) ……. Page 69
VIII. 3.2. Détermination de l'acidité……. Page 69
VIII. 3.2.1. Définition……. Page 69
VIII. 3.2.2. Principe……. Page 69
VIII. 3.2.3. Mode opératoire……... Page 69
VIII. 3.3. Détermination de la densité……... Page 69
VIII.3.4. Détermination des teneurs en protéines et en matière grasse……. Page 70
VIII. 3.4.1. Principe de fonctionnement du MilkoScan FT120……. Page 70
VIII. 4. Mesure et suivi la teneur en sucre réducteurs (méthode DNS) [106]….. Page 71
VIII.4.1. Principe du dosage par le DNS…… Page 71
VIII.4.1.1. Mode opératoire…… Page 71
VIII.4.1.2. Mesure et suivi du pH…….. Page 72
VIII.5. Mesure et suivi de l'acidité…… Page 72
IX. Analyse sensorielle…….. Page 72
IX. 1. Les sujets…….. Page 72
IX. 2. L'environnement de la dégustation…….. Page 72
IX.3. Les produits…….. Page 72
IX.4. Déroulement des séances de dégustation…….. Page 73
X. Conclusion……. Page 73
Page 75

Partie C. Résultats et discussion……..
I. Etude de la fleur de Myrte……... Page 76
1.1. Introduction……... Page 76
I.2. Optimisation de l'extraction de Myrte en fleurs par plan de Doehlert modifié par l'algorithme de DETMAX (Voir Annexe I) ……... Page 76
I.2.1. Analyse du plan d'expériences……. Page 76
I.2.2. Etude du type d'erreur de mesure……. Page 78
I.2.3. Analyse préliminaire de l'importance des facteurs……... Page 79
I.2.4. Identification paramétrique……... Page 80
I.2.5. Validation du modèle…… Page 85
I.2.6. Preuve de l'intérêt de l'analyse préliminaire…… Page 86
I.2.7. Interprétation du modèle et détermination des conditions optimales d'extraction…… Page 87
I.3. Comparaison de la composition chimique et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de fleurs issue de l'hydrodistillation et d'extrait obtenu par CO_2 supercritique…….. Page 91
I.3.1. Composition chimique……. Page 91
I.3.2. Activité Antioxydante…….. Page 93
I.5. Conclusion…… Page 94
II. Etude de *Pistacia Lentiscus*…… Page 94
II.1. Introduction…….. Page 94
II.2. Optimisation du rendement d'extraction et de l'activité antioxydante…… Page 95
II.2.1. Etablissement des deux modèles……... Page 95
II .2.2. Analyse globale des modèles……... Page 96
II.2.3 Analyse statistique des coefficients…… Page 97
II.2.4. Interprétation des courbes d'isoréponses…… Page 99
II.2.5 Recherche de l'optimum global pour les deux réponses……... Page 102
II.3. Evaluation économique de l'extrait de *Pistacia* à différents conditions…… Page 103
II. 4. Conclusion……... Page 108
II.5. Composition d'extrait de Pistacia et recherche des composés responsables de l'activité antioxydante……. Page 109
III. Application Industrielle…… Page 117
III.1. Etude de la stabilité oxydative d'huile de beurre additionnée des extraits de *Pistacia* et de Myrte……... Page 117
III.1.1. Introduction…… Page 117
III.1.2. Essais de chauffage et antioxydants……. Page 117
III.1.2.1. Variation de la teneur en β-carotène……... Page 117
III.1.2.2. Variation de l'indice de peroxyde ……. Page 122
III.1.3. Test Rancimat…… Page 127
III.1.4. Conclusion……. Page 128
III.2. Aromatisation des yaourts par l'eau florale du Myrte et répercussion sur le déroulement de la fermentation et la qualité organoleptique de produit fini : Influence de l'ajout des extraits naturels sur la cinétique de coagulation…… Page 128
III.2.1. Introduction……... Page 128
III.2.2. Effet de l'ajout de l'eau florale et du vin sur les différents paramètres physico-chimiques du yaourt…… Page 129
III.2.2.1. Effet de l'ajout de l'eau florale sur le pH et l'acidité……. Page 129
III.2.2.2. Effet de l'ajout de l'eau florale sur la teneur en sucre réducteurs…… Page 132
III.2.2. Résultats des analyses sensorielles……. Page 134

III.3. Stabilisation des filets de sardine au cours de l'entreposage réfrigéré par ajout des antioxydants naturels…… Page 136
III.3.1. Introduction…… Page 136
III.3.2. Variation de la teneur en ABVT au cours de l'entreposage réfrigéré des poissons……... Page 136
III.3.3. Variation de l'indice de peroxyde au cours de l'entreposage réfrigéré des poissons…… Page 138
III.3.4. Variation de l'indice de rétention d'eau au cours de l'entreposage réfrigéré des poissons……... Page 139
III.3.5. Résultats des analyses sensorielles…… Page 140
IV. Modélisation…… Page 141
IV.1. Présentation du modèle de Sovova ……... Page 141
IV.2. Estimation des paramètres…… Page 149
IV.3. Résultats du modèle……... Page 150

CONCLUSION GENERALE…… Page 157
Perspectives…… Page 160
REFERENCES……... Page 161
Annexes…… Page 176
Résumé & abstract…… Page 193

NOTATION

Abréviations

CER : Période d'extraction à vitesse constante

DC : Diffusion Contrôlée

FER : Période de taux d'extraction réduite

Lettres Romaines minuscules

a :	Aire spécifique du solide	(m^{-1})
a_0 :	Surface interfacial spécifique	(m^{-1})
a_p :	Surface superficielle spécifique	(m^{-1})
k_e :	Résistance externe au transfert de masse	(m/s)
k_f :	Coefficient de transfert de masse : dans la phase fluide dans le film externe de l'huile libre au solvant	(m/s)
k_i :	Coefficient du transfert de masse de l'huile stockée	(m/s)
k_p :	Constante d'équilibre entre l'huile stockée et le solvant	(kg/kg)
k_s :	Coefficient de transfert de masse dans la phase solide	(m/s)
m_{total} :	Masse totale de l'huile extraite	(kg)
$\bar{q}$:	Concentration moyenne de l'huile dans la phase solide	($kg.m^{-3}$)
q_0 :	Concentration initiale de l'huile dans la phase solide	($kg.m^{-3}$)

q^* :	Concentration de l'huile dans le solide, à l'interface	(kg de l'huile/kg de solide)
r :	Coordonnée radiale	(m)
r_c :	Rayon critique	(m)
t :	Temps	(s)
t_i :	Temps de diffusion interne	(s)
x :	Concentration de l'huile dans la phase solide libre (accessible)	
x_k :	$\frac{K}{N}$	(kg de l'huile/kg de solide)
x^+ :	Concentration à l'interface dans la phase solide	(kg de l'huile/kg de solide)
y :	Concentration dans la phase fluide relative à la concentration initiale	(kg de l'huile/kg de solide)
y_r :	Solubilité	(kg d'huile/kg de solvant)
z :	Coordonnée axiale	(m)

Lettres Romaines majuscules

C :	Concentration du soluté dans le solide	($kg.m^{-3}$)
$\overline{C}^*$:	Concentration de l'huile dans la phase solide à l'interface solide-fluide	($kg.m^{-3}$)
C_i :	Concentration de l'huile dans les pores	($kg.m^{-3}$)
$\overline{C}_i$:	Concentration moyenne du soluté dans les pores x	($kg.m^{-3}$)
C_m :	Constante qui correspond à la quantité maximale absorbée dans le cas du lit avec une monocouche	($kg.m^{-3}$)
$\overline{C}_s$:	Concentration moyenne : du soluté dans le solide	($kg.m^{-3}$)
C_{sat} :	Concentration de saturation (solubilité) de l'huile dans la phase fluide	($kg.m^{-3}$)
D_e :	Constante de diffusion effective	(m^2/s)
D_i :	Diffusion du soluté dans la phase solide	(m^2/s)

D_L :	Coefficient de dispersion axiale	(m/s)
H :	Hauteur d'extracteur	(m)
J :	Flux de transfert de masse	($kg.m^{-3}.s^{-1}$)
K :	Constante d'équilibre d'adsorption /Masse initiale du soluté difficilement accessible	(Adimensionnel)/ (kg)
K_i :	Coefficient de transfert de masse interne	
Kp :	Coefficient de transfert de masse combiné	(m/s)
K_ψ :	Constante d'équilibre entre l'huile libre et le solvant	(kg/kg)
L :	Hauteur du lit (m)	
M_{CER} :	Le taux de transfert de masse pour la période de CER	
N :	Masse du solvant pauvre en soluté	(kg)
O :	Masse initiale du soluté dans la phase solide	(kg)
P :	Masse initiale du soluté facilement accessible / Concentration de l'huile dans la phase solide exprimée en termes de masse du soluté par unité de masse du solide insoluble	(kg)/ (kg/kg)
Q_{CO_2} :	Débit du solvant	(Kg/s)
R :	Rayon des particules	(m)
U :	Vitesse superficielle du solvant	(m/s)
V :	Volume de l'extracteur	(m^3)
$Y(t)$:	Concentration de l'huile en fonction du temps d'extraction	($kg.s^{-1}$)
Y_{CER} :	Rapport massique du soluté dans le fluide pendant la phase CER	
Y_∞ :	Rendement asymptotique d'extraction	

Lettres Grecques minuscules

α :	Porosité du lit	(Adimensionnel)
β :	Porosité du solide	(Adimensionnel)
ε :	Porosité du lit ou fraction du vide	(Adimensionnel)
ρ :	Masse volumique du solvant	($kg.m^{-3}$)
ρ_e :	Masse volumique des particules avant extraction	($kg.m^{-3}$)
ρ_s :	Masse volumique du solide	($kg.m^{-3}$)
ρ_0 :	Masse volumique de l'huile	($kg.m^{-3}$)
τ :	Temps de séjour	(s)
ϕ_f :	Fraction volumique des particules qui occupe la phase huileuse "libre"	
ϕ_t :	Fraction volumique des particules qui occupe la phase huileuse "stockée"	

Lettres Grecques majuscules

ψ :	Rapport entre le volume de l'huile libre et le volume des particules ouvertes ou accessibles au solvant
ψ_0 :	Rapport entre le volume de l'huile libre et le volume des particules ouvertes ou accessibles au solvant au début de l'extraction

Constantes

f : Coefficient qui dépend de la géométrie de la particule

$f = \frac{3}{5}$ pour une sphère

$f = \frac{1}{2}$ pour un cylindre

$f = \frac{1}{3}$ pour une plaque

Introduction générale

Depuis l'antiquité, l'homme utilisait les plantes pour répondre à ses besoins, il les utilise pour l'alimentation, pour avoir de l'énergie et pour soigner ses maux. Ainsi, le premier texte connu sur la médecine par les plantes est gravé sur une tablette d'argile rédigé par les Sumériens 3000 ans Av. J.-C. Ils utilisaient les plantes telles que le myrte, le chanvre, le thym, le saule en décoctions filtrées.

Se trouvant dans le bassin méditerranéen avec de grandes variations climatiques du nord au sud, la Tunisie est caractérisée par une flore riche comportant environ 2162 espèces réparties en 115 familles et en 742 genres [1], dont 187 [2] sont considérées comme des plantes aromatiques et médicinales non toxiques.

Les plantes médicinales aromatiques spontanées du domaine forestier occupent environ 409000 ha localisées essentiellement dans le Nord. Des champs de 100 000 à 250 000 ha, composés de Romarin, de Thym, de Myrte, d'Armoise blanche et de Menthe peuvent être exploités. La cueillette des plantes aromatiques médicinales spontanées a intéressé essentiellement le Myrte, le *Pistacia* et le Romarin [3].

Les plantes aromatiques et médicinales demeurent une source inépuisable de substances biologiquement actives, ainsi au cours de la dernière décennie l'utilisation de ces plantes est devenue plus fréquente sous des formes simples répondant à des normes de qualité : plantes sèches, huiles essentielles, teintures officinales, extraits fluides, extraits secs.

Ces espèces sont exploitées en usage culinaire, en médicine traditionnelle ainsi qu'à des fins industrielles (agro-alimentaire, cosmétique, parfumerie, pharmaceutique…), puisque ces plantes renferment des huiles essentielles et d'autres substances pouvant être utilisées comme des arômes (alimentation), des fragrances (parfumerie), des principes actifs (pharmacie).

Les plantes aromatiques et médicinales ont une importance considérable dans l'économie Tunisienne, non seulement dans l'activité industrielle qui assure une revenue d'environ 15,38 millions de dinars lors de l'exportation des plantes médicinales aromatiques et 74,43 millions de dinars lors de l'exportation des huiles essentielles et d'eau de fleurs, mais également pour leur importance socioéconomique, spécialement dans les régions rurales.

Or, la valorisation de ces espèces aromatiques et médicinales passe principalement par leur évaluation chimique et biotechnologique à travers l'extraction, l'analyse et l'identification de leurs constituants et l'étude structurale de leurs composés bioactifs.

Le procédé d'extraction et l'obtention des extraits est le paramètre clé pour garantir une bonne qualité des huiles essentielles. Les nouvelles technologies ont pu aboutir à des nouveaux procédés d'extraction parmi lesquelles l'extraction par CO_2 supercritique qui présente un moyen intéressant pour avoir un produit pur, et éviter la présence de solvant résiduel.

Le procédé d'extraction supercritique est devenu une méthode très répandue pour la récupération des composants bioactifs ainsi que pour d'autres produits à haute valeur ajoutée.

Dans ce cadre, l'objectif de cette thèse est focalisé sur l'étude et la valorisation des feuilles de Pistacia *Lentiscus* L et les fleurs de Myrtus *Communis* issues de la flore tunisienne.

Dans la première partie de cette thèse, nous présentons une synthèse de l'intérêt de travaux de recherche et des théories élaborées en relation avec notre sujet thèse.

Dans le premier volet nous présenterons des données générales relatives aux deux plantes et leur importance dans des différents domaines industriels, le 2ième volet traitera la modélisation avec les plans d'expériences et enfin dans le troisième volet nous nous intéresserons à la modélisation par les modèles de reconnaissances pour l'extraction des molécules bioactives avec le CO_2 supercritique.

Dans la 2ième partie nous présenterons le matériel utilisé pour l'extraction, pour l'analyse chimique et pour la valorisation industrielle des extraits et des huiles essentielles.

La troisième partie comporte un premier paragraphe qui analyse les données de l'optimisation d'extraction des fleurs de Myrte en utilisant un plan d'expérience modifié par des algorithmes d'échanges Detmax –Fedrov. Dans ce même paragraphe, nous déterminerons la composition chimique des extraits de fleurs de Myrte et son activité antioxydante et nous les comparons avec les huiles essentielles issues de l'hydrodistillation.

Vu la quantité importante des feuilles de *Pistacia* et ses diverses utilisations, dans le 2ième volet nous effectuons une étude complète sur cette plante qui passe par une optimisation des conditions d'extraction par CO_2 supercritique et de l'activité antioxydante afin d'avoir un produit avec un rapport qualité prix compétitif sur le marché des huiles essentielles. Une étude approfondie de la composition de cet extrait de *Pistacia* en cherchant les composés de la fraction volatile responsable de l'activité antioxydante en fonction des conditions opératoires choisies.

Le troisième volet est consacré à l'exploitation et la valorisation de l'extrait par CO_2 supercritique et des huiles essentielles de myrte en remplaçant des antioxydants commerciaux par des autres antioxydants naturels pour améliorer la qualité des produits agroalimentaires.

Dans le dernier volet, nous étudierons l'effet des différents paramètres opératoires sur la cinétique d'extraction de *Pistacia* en se basant sur des équations de transfert de matière dans un milieu poreux.

PARTIE A

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Le Myrte

I.1. Origine et historique

Le myrte, appelé *Myrtus communis* L dans le monde botanique, et l'Homme cohabitent la Méditerranée depuis l'antiquité. Il avait une valeur symbolique et même sacrée pour les Grecs, les Romains, les Perses et les Juifs.

Le myrte occupe une place prépondérante dans les écrits d'« Hippocrate», de « Pline », de « Dioscoride », de « Galien » et des écrivains arabes.

Mytus communis L. est l'une des plus importantes plantes aromatiques et médicinales. Elle appartient à la famille des Myrtacées, comprenant 16 espèces, qui est très répandue dans le bassin Méditerranéen, le Moyen Orient et les régions les plus chaudes de l'Amérique du Nord et d'Australie. [4]

En Tunisie, le myrte est représenté par une seule espèce *Myrtus.communis. L* qui pousse spontanément dans les zones côtières, les collines et les zones forestières du Nord Tunisien dans les régions de Tabarka, Ain Drahem, Bou Kornine et le Cap Bon [5], sous les bioclimats humides et subhumides [6].

I.2. Variétés de myrte

Le myrte est un arbrisseau qui s'adapte bien à plusieurs types de sols [7], avec un pH neutre ou légèrement acide [8], préférant toutefois les sols humides tout en évitant les terrains à matrice calcaire [9]. Cette plante tolère assez bien les embruns et la sècheresse ainsi que le froid. Deux variétés de myrte ont été décrites dans la flore Tunisienne : *Myrtus communis* var. *italica* L. et *Myrtus.communis* var. *baetica* L. [10] qui présentent le même caractère végétatif mais présentent une différence morphologique au niveau des feuilles et des fruits car les feuilles et les fruits de *baetica* sont plus grands que ceux *d'itilica*. [11]

I.3. Intérêts thérapeutiques du myrte

Grâce à sa composition, le myrte constitue une plante aromatique et médicinale intéressante connue pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques et utilisation en médecine traditionnelle.

Les principales indications du myrte sont les maladies des voies respiratoires et du système urinaire. Le décocté des fruits permet de soulager l'ulcère et les douleurs gastriques. De plus, il est préconisé en gargarisme pour traiter les gingivites. Ces fruits produisent une huile qui serait efficace en application locale pour atténuer les douleurs rhumatismales. Outre les fruits, le décocté des fleurs est signalé pour arrêter les diarrhées aigües et soigner la toux et les rhinites. En ce qui concerne les feuilles, elles sont utilisées en infusion dans les cas d'hypertension artérielle, de douleurs abdominales et de l'inflammation de la gorge [12].

L'huile essentielle des feuilles de *Myrtus communis. L* permet le soulagement des affections pulmonaires et des voies urinaires à cause de ses actions antiseptique, astringente et tonique.

Les composés antibactériens de l'huile essentielle confèrent à cette plante une efficacité indiscutable dans les cas d'affections cutanées spécialement contre les psoriasis [13].

Des études récentes ont montré que cette huile essentielle possède un effet hypoglycémiant tout en réduisant l'absorption intestinale du glucose via l'inhibition de l'α-glucosidase [14].

Les feuilles et les fruits du myrte sont caractérisés par leur richesse en composés phénoliques. Ces derniers, considérés comme des antioxydants naturels, sont très recherchés dans divers domaines à savoir la phytothérapie, les industries agroalimentaires et pharmaceutiques, la cosmétique, ... [15] et ceci en raison de leurs propriétés anti-radicalaire, anti-inflammatoire, anti-cancérigène et antimutagène [16].

Les résultats d'une étude clinique [17] menées avec le myrtol, issu du myrte ont prouvé son efficacité sur la bronchite aigüe et la sinusite.

Cette étude montre également que le myrtol pourrait représenter une alternative intéressante aux antibiotiques, sans agent infectieux spécifique et sans courir le risque de favoriser le développement de la résistance bactérienne.

I.4. Les huiles essentielles

I.4.1. Définition

Comme son nom ne l'indique pas, une huile essentielle ne contient pas de corps gras comme une huile végétale obtenue à l'aide d'un pressoir. Le terme d'huile essentielle remonterait au XVI^{e} siècle et dériverait d'une drogue *Quintaessentia* [18].

D'autres pensent que les huiles essentielles ou encore essences doivent leur nom à leur inflammabilité comme l'essence.

La plupart des végétaux qui renferment des huiles essentielles sont appelés "plantes aromatiques". On trouve ces substances volatiles non grasses dans de nombreux organes de la plante (feuille, fleur, fruit, graine, écorce, racine, ...). Toutefois, la quantité d'huile essentielle produite est très variable selon l'espèce et généralement faible, de l'ordre de 1 %, avec quelques exceptions comme le bouton floral du giroflier où le taux d'huile essentielle atteint 15 % [19].

L'Association Française de Normalisation (ISO9835) définit une huile essentielle comme étant un produit ayant des propriétés aromatisants (odorifères et sapides) obtenu à partir de la matière végétale soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques soit par distillation à sec. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques. Très volatiles, les huiles essentielles ne rancissent pas, sont solubles dans l'huile et dans l'éthanol mais pas dans l'eau [20].

I.4.2. L'huile essentielle de myrte

I.4.2.1. L'huile essentielle de la feuille

Les huiles essentielles de la feuille de myrte peuvent être de type α-pinène/1,8-cinéole rencontrées en Italie [21], en Tunisie [5], au Liban [22] et en France [23]. L'Iran a une huile essentielle de type α-pinène/limonène [24].

Le chimio type acétate de myrtényle caractérise les huiles essentielles d'Espagne [25] et de Croatie [26]. Cependant, l'Albanie [25] et le Maroc présentent des HE de type 1,8-cinéole [27] et celles de la Turquie sont de type limonène [28].

I.4.2.2. L'huile essentielle du fruit (Figure 2)

Le fruit du myrte est généralement moins riche en HE que la feuille ; il possède une composition en HE voisine de celle de la feuille mais à des proportions différentes.

Les composées majoritaires de l'HE du fruit mûr de *Myrtus communis* d'Espagne sont : 1,8-cinéole (61,5%), α-pinène (7,2%) et α-terpinéol (4,2%) [29].

Au Maroc, l'huile essentielle du fruit mûr est riche en α-pinène (25%), 1,8-cinéole (20,5%), limonène (18%) et acétate de myrtényle (10%) [30].

En Italie, le composé majeur de l'huile essentielle du fruit mur est l'α-pinène (51,1%), suivi du 1,8-cinéole (23,1%) et du limonène (7,9%) [24].

En Tunisie, l'huile essentielle du fruit mûr (60 jours APF) est riche en 1,8-cinéole (40,99%), linalool (18,92%), acétate d'α-terpinyle (8,94%), α-pinène (7,20%) et terpinéol (5,29%) [31].

I.4.2.3. L'huile essentielle de la fleur (Figure1)

Les feuilles et les fleurs sont les organes qui produisent la quantité la plus importante d'huile essentielle représentant respectivement un rendement de 0,3% et 0,6%.

L'HE des fleurs de myrte en Tunisie est riche en α-pinène (17,53%), 1,8-cinéole (12,70%), limonéne (10,11%), eugénol (10,11%) et l'α-terpineol (5,16%) [14].

En Croatie et en Espagne, la composition des HE de la fleur est caractérisée par sa richesse en acétate de myrtényle représentant une proportion d'environ 23% [26,27].

Cependant, l'HE de la fleur de myrte du Maroc présente une proportion importante d'α-pinène atteignant 31% contre 1% d'acétate de myrtényle [27].

Figure 1. Fleur de Myrte

Figure 2. Fruit de Myrte

II. Le pistachier lentisque

II.1. Origine

Le pistachier lentisque est appelé communément « dharw » au Maghreb ou encore « Mastaka » dans les pays du Moyen Orient. Sous ce nom, on vend une résine importée du Maroc, produite par le même arbre, mais provenant de l'île Chio en Mer Egée et des îles voisines. Ainsi, le microclimat de ces îles favorise le développement d'une variété de lentisque (*Pistacia lentiscus* L. var. chia DC.) qui se caractérise par une résine plus abondante, dure se présentant comme des larmes et de meilleure qualité aromatique : la gomme-mastic existant également dans les pays du Maghreb. L'espèce est signalée comme très commune sur la frange littorale où elle constitue une formation caractéristique avec l'oléastre (un arbre originaire de l'Afrique du Nord où il pousse spontanément, à l'état naturel mais il se trouverait plus au nord, dans la zone méditerranéenne européenne) de l'espèce *Oleaeuropaea L.* ; elle est également présente dans les formations de l'espèce *Quercus ilex L.* (chêne vert). Le lentisque méditerranéen est une espèce courante en Tunisie où il constitue souvent des maquis [31].

II.2. Caractéristiques botaniques

Il s'agit d'un arbuste ou arbrisseau buissonnant et touffu, vert et à feuillage persistant. Il mesure 1 à 3 m de hauteur et dégage une odeur résineuse très prononcée. La feuille possède un pétiole étroitement ailé ; elle est persistante en hiver, coriace, luisante, longue de 2 à 4 cm sur 8-15mnm de large, de couleur vert sombre brillant sur sa face supérieure ; elle est composée d'un nombre pair de folioles (4-5 paires) disposées comme les barbes d'une plume autour de l'axe central (feuilles dites paripennées). La feuille dégage une odeur de térébenthine lorsqu'on la froisse et se caractérise par une saveur amère et camphrée. L'inflorescence est en grappes spiciformes, rameuses, denses et courtes. Elles apparaissent seules ou par deux à l'aisselle d'une feuille ; elles sont courtement pédicellées et comportent des fleurs petites mâles ou femelles. La fleur

est unisexuée et sans pétales ; elle est verte ou rougeâtre. La fleur mâle comporte 5 étamines alors que la fleur femelle comporte un ovaire à 3 carpelles concrescents (soudés) et uniovulés. Le fruit est petit et globuleux : c'est une drupe rouge puis noire à maturité contenant un noyau [32.

II.3. Usages traditionnels décrits dans le monde Magrébin

II.3.1. La racine

En Tunisie, la racine est employée sous forme de décocté, comme béchique, ce décocté est parfois conseillé dans le traitement de l'asthme. Il est encore employé en bain de bouche pour soigner les gingivites. Il est également préconisé en tant que cicatrisant et antirhumatismal [32].

II.3.2. L'écorce

Elle est employée au Maroc sous forme de décocté ou réduite en poudre pour traiter les maladies gastriques et intestinales [33].

II.3.3. Oléorésine ou gomme

L'oléorésine était employée, en Algérie en fumigation contre la fièvre, dans le Sahara de l'Oranais à Taghit et était largement utilisée en fumigation à titre prophylactique et thérapeutique au Sahara. Cette résine ou gomme (celle considérée comme la meilleure provient de Chio) était employée au Maroc comme parfum par les gens aisés.

II.3.4. Les feuilles

En 1921, en Afrique du Nord, elles passaient pour être astringentes, diurétiques et emménagogues. Sous forme d'infusé, elles étaient employées pour enlever la mauvaise haleine et l'odeur de la sueur.

En Tunisie, en usage interne sous forme de décocté, elles sont utilisées pour calmer les douleurs gastriques ou directement consommées pour apaiser le pyrosis (reflux de l'acide gastrique de l'estomac vers l'œsophage). Elles sont mastiquées pour combattre l'hypertension artérielle dans plusieurs villages du Nord-ouest Tunisien [32].

II.3.5. Fruits, huiles de fruits

Le fruit de *P. Lentiscus* est consommé en Tunisie pour apaiser le pyrosis [32]. Par ailleurs, son huile est extraite après ébullition de la poudre de fruits ou de la poudre de leurs graines. Cette huile est employée en Tunisie en usage interne pour apaiser les gastralgies et en usage externe dans le traitement des rhumatismes dans la région de Souassi [33]. Il faut signaler également que cette huile est employée au Maroc dans les traitements de la galle et des rhumatismes [32].

II.4. Composition chimique de l'huile essentielle de *Pistacia Lentiscus*

De nombreux travaux ont indiqué une variabilité de la composition de l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus,* Zrira et al. [34] ont affirmé que l'analyse de la composition des huiles essentielles de cette plante à partir de 3 lieux différents a montré que les composés majeurs des huiles essentielles de la région d'Oulmes sont l'α-pinène, le β-myrcène (10,2-11,5%) et le

limonène (6,8-9,8%) alors que les composés majeurs dans la région de Chaouen sont le terpinène-4-ol (32,7-43,8%), l'α-pinène (7,1-13,5%) et l'acétate de bornyle (6,8-10,3%).

Douissa *et al.* [35] ont analysé la composition de l'huile essentielle issue de Zaghouan en Tunisie. L'alpha-pinène (17%), le gamma- terpinène (9%) et le terpinène-4-ol (12%) en constituent les composés majeurs [36].

Par ailleurs, l'huile essentielle d'Espagne se distingue par la prédominance de la classe des sesquiterpènes où le β-caryophyllène (13,1%), le γ-cadinène (8,1%) et le germacrène-D (6,8%) représentent les composés majeurs [36].

L'étude de l'extraction des feuilles des Pistacia, provenant de l'Italie, par CO_2 supercritique été étudiée par Congiu *et al.* [37]. La composition chimique de l'huile, a été déterminée par analyse GC-MS et a révélé la présence de β-caryophyllène (31,38%), D-germacrène (12,05%) et α - cadinene (6,48%) comme des composés majeurs.

III. Activités thérapeutiques

Une grande importance était attribuée à l'utilisation des herbes et des odeurs dans la vie quotidienne, depuis l'antiquité et surtout à l'époque médiévale, ou par exemple certaines herbes étaient utilisées pour purifier l'air ambiant que l'on croyait capable de transmettre certaines maladies, ainsi, les chemins, sur lesquels les cortèges royaux des siècles passés roulaient, étaient la plupart du temps jonchés d'herbes séchées comme le romarin et le thym. Elles avaient pour objet de protéger les souverains et leurs familles de maladies, comme la peste.

Toutefois l'utilisation de ces plantes n'était basée ni sur des preuves scientifiques, ni sur une étude clinique mais plutôt sur des pratiques traditionnelles. Ce n'est que durant les deux dernières décennies que les substances chimiques extraites à partir de ces plantes ont été valorisées prouvant ainsi leurs propriétés thérapeutiques.

La phytothérapie désigne la médecine basée sur les extraits de plantes et les principes actifs naturels, elle est à l'origine de plusieurs travaux permettant de localiser le mode d'action de ces substances chimiques à l'échelle des organes, des tissus et même à l'échelle cellulaire. Ainsi, en médecine moderne, la tendance actuelle serait d'introduire dans la médication des substances brutes ou même des composés purs qui possèderaient un effet curatif.

Néanmoins, l'utilisation des plantes présente des limites et ne peut être aisément définie car les composés phytochimiques endogènes se trouvent dans des systèmes hétérogènes extrêmement complexes. De plus, ils sont présents d'une façon inéquitable dans les cellules végétales. Toutefois, le souci d'avoir une bonne santé et une vie saine a augmenté la demande en herbes médicinales. C'est ainsi que des efforts scientifiques ont été déployés afin d'attribuer à ces plantes le statut des véritables médicaments et de développer le secteur de la phytothérapie [36].

L'aromathérapie est l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles à base d'herbes, de fleurs et d'autres plantes. Les huiles essentielles peuvent être absorbées dans le corps via la peau ou par l'intermédiaire du système olfactif.

Différentes méthodes sont utilisées pour fournir l'aromathérapie, tels que les diffuseurs, les bains, les massages et les compresses. Plusieurs études ont montré que l'aromathérapie est efficace pour réduire différents types de douleur, y compris la douleur postopératoire, la fibromyalgie et la dysménorrhée. Toutefois, les effets thérapeutiques de l'aromathérapie ne sont pas bien pris en charge par des études cliniques. La plupart des preuves de l'efficacité thérapeutique de l'aromathérapie a été publiée dans des livres sur l'aromathérapie et non dans des revues scientifiques. De nombreux essais cliniques ont émergé, mais leurs résultats ne sont pas confirmés complètement [37].

III.1. Activité antioxydante

III.1.1. Les antioxydants et le stress oxydatif

Un antioxydant est une molécule qui diminue ou empêche l'oxydation d'autres substances chimiques.

Les antioxydants inhibent l'oxydation par l'un de ces deux mécanismes :

- Le mécanisme de neutralisation des radicaux libres et par la suite l'arrêt des réactions en chaîne initialisés par ces derniers.
- Le mécanisme de la destruction des hypers oxyde donc la diminution de la vitesse de formation des radicaux libres [38]

Les antioxydants sont utilisés pour la conservation des aliments dans l'industrie agroalimentaire et pour la conservation des produits cosmétiques, et ceci en empêchant la réaction d'oxydation des lipides contenu dans leurs matrices [39].

Les radicaux libres sont produits dans notre organisme par des réactions biochimiques déclenchant ainsi des réactions d'oxydation en chaîne ayant une action néfaste sur les cellules du corps humain, en les abîmant et en accélérant le processus de vieillissement.

Si le corps humain fonctionne normalement, il produit simultanément les antioxydants et les radicaux libres donc il maintient l'équilibre entre ces deux types de substances dans le processus métabolique. Le déséquilibre entre ces deux types de composés conduit à un phénomène appelé stress oxydatif [40]. Ce déséquilibre augmente avec l'âge et il est à l'origine de plusieurs pathologies dans l'organisme humain comme le vieillissement, le cancer, la cataracte, la sclérose latérale amyotrophique, le syndrome de détresse respiratoire aiguë, l'œdème pulmonaire [41], l'inflammation, les maladies neurodégénératives, l'athérosclérose [39,41], l'infarctus, les allergies [39].

Le stress oxydant est aussi l'un des facteurs favorisant l'apparition de maladies plurifactorielles tels que le diabète, la maladie d'Alzheimer, les rhumatismes et les maladies cardio-vasculaires [39] puisqu'il cause l'endommagement des molécules biologiques telles que l'ADN, les lipides, les protéines…

Les facteurs favorables à la formation et à l'augmentation de radicaux libres sont l'exposition à des agressions de l'environnement, comme les agents infectieux, la pollution, les UV et le rayonnement [42]. Le déséquilibre peut, aussi, être dû à un apport insuffisant d'antioxydants

dans le régime alimentaire car chaque molécule d'antioxydant ne peut réagir qu'avec un seul radical libre, il faut refaire le plein de ressources antioxydantes [43].

III.1.2. Utilité alimentaire des antioxydants

Maîtriser l'oxydation est indispensable pour gérer l'évolution des systèmes biologiques dans leur complexité, en particulier dans le cas des aliments dont la dégradation peut avoir des conséquences sur la sécurité alimentaire. L'activité antioxydante est évaluée soit par le dosage des produits formés (en particulier des hydroperoxydes) par des techniques photométriques plus ou moins directes, soit par la mesure de l'efficacité du composé à piéger des radicaux libres.

Pour limiter l'oxydation, l'industrie agroalimentaire peut baisser le taux d'oxygène (immersion, vide, atmosphère sous azote), pour ralentir les réactions par réfrigération ou congélation, en détruisant les enzymes d'oxydation (polyphénols oxydases), en ajoutant des antioxydants inhibant l'oxydation induite par l'oxygène.

En limitant les risques de radicaux libres, la présence d'antioxydants, combinée à d'autres techniques, est indispensable à la stabilité des produits [44].

III.1.3. Propriétés

L'antioxydant alimentaire idéal, et facilement incorporable et efficace à faible dose, est non toxique, n'entraîne ni coloration, ni odeur, ni saveur indésirable. Il est résistant au changement thermique et mécanique et stable dans le produit fini.

Il s'agit, en fait, d'agents de prévention ou de terminaison capables d'éviter ou de piéger les radicaux libres en bloquant l'initiation, en complexant les catalyseurs, en réagissant avec l'oxygène ou en déviant de l'aliment les effets de lumière ou les rayonnements. Ils constituent un groupe de substances chimiques largement utilisées pour prolonger la durée de conservation d'une grande variété de produits alimentaires.

Bien que la plupart des matières premières utilisées contiennent déjà des antioxydants naturels, durant les procédés de fabrication des aliments, ils en sont appauvris, nécessitant l'addition d'antioxydants synthétiques. Les antioxydants peuvent être efficaces à des très faibles concentrations, 0,01%, mais ils ne peuvent ni rendre le processus d'oxydation réversible ni prévenir rancissement hydraulique [45].

Pour être incorporé dans les produits alimentaires et utilisé comme additif alimentaire, l'antioxydant doit satisfaire plusieurs critères. Il doit être soluble dans les lipides, au moins effectif sur une durée d'une année à une température entre 25 et 30°C, facile à incorporer et efficace à des faibles concentrations. Il doit aussi rester stable durant le chauffage sans apporter de changement remarquable sur la qualité de l'aliment par rapport à une longue durée de stockage [45].

La performance des antioxydants dépend du milieu, de leur concentration et du temps d'oxydation [46].

III.1.4. Antioxydants synthétiques

Les antioxydants synthétiques, vu leur efficacité, leur faible coût et leur disponibilité, sont largement utilisés dans les aliments comme additifs dans le but de prévenir la rancidité. Plusieurs antioxydants synthétiques comme le butylhydroxyanisole (BHA), la tétrahydrobutylhydroquinone (TBHQ), le 2,4,5-trihydroxybutyrophénone (THBP), le di-tertbutyl-4-hydroxyméthylphénol (IONOX-100), le gallate de propyle (PG), le gallate d'octyle (OG), l'acide nordihydroguaiarétique (NDGA) et le 4-hexylrésorcinol (4HR), sont utilisés dans les cosmétiques [47].

Le gallate de propyle et le butylhydroxyanisole sont des antioxydants phénoliques synthétiques hautement actifs qui agissent en inhibant la chaîne de réactions d'initiation et en réduisant la peroxydation des acides gras insaturés [48]. Malgré la puissance de leur activité antioxydante, l'excès de ces antioxydants synthétiques peut être toxique, et peut même présenter un danger sur la santé humaine [49].

III.2. Antioxydants naturels

III.2.1. Particularité des antioxydants naturels

Les antioxydants naturels apportés de l'alimentation comprennent, généralement, de l'ascorbate, des tocophérols, des caroténoïdes et des phénols végétaux bioactifs. Les bénéfices sur la santé, des fruits et légumes sont largement dus aux vitamines antioxydantes présentées par un grand nombre de composés phytochimiques.

En effet, les sources de tocophérols, de caroténoïdes et de l'acide ascorbique ainsi que leurs bénéfices sur la santé sont bien connues et investiguées dans un surplus de publications de recherches scientifiques bien variées. Mais, les phénols végétaux n'ont pas été complètement étudiés en raison de la complexité de leur nature chimique et la difficulté de leurs extractions.

Des nombreuses constatations, liées à la présence de phénols antioxydants dans des sources végétales, ont été établies dans le but de mieux les étudier et les évaluer tels que les produits traditionnels, les sous-produits agricoles, les tisanes, les huiles végétales pressées à froid et d'autres moins connues.

III.2.2. Effet antioxydant naturel pour un aliment meilleur

Il y a de plus en plus d'intérêt à l'utilisation des antioxydants naturels comme des composants bioactifs dans les aliments [50]. Grâce à leur capacité à piéger les espèces d'oxygène réactif (ROS), les antioxydants sont capables d'inhiber le processus d'oxydation du cholestérol et par la suite diminuent le risque des maladies cardiovasculaires [51]. Bien que l'oxydation du LDL (lipoprotéine à basse densité) puisse être empêchée par l'addition d'antioxydants synthétiques, plus d'attention est dirigée vers les antioxydants naturels pour leur meilleure sécurité comparée aux composants chimiques [52]. Les effets protecteurs de ces régimes riches en fruits et en végétaux, contre certains cancers, ont été attribués en partie aux antioxydants qu'ils contiennent, particulièrement aux polyphénols [53]. Dans une étude récente, l'extrait des feuilles Olea europea L. (la source la plus riche en phénols) a été utilisé pour déterminer son effet à ralentir l'oxydation de la matière grasse [54,55].

Malgré une relative stabilité apparente et les soins apportés pour la conserver, tous les produits alimentaires subissent des altérations. Leur manipulation (transformation, conditionnement, stockage...) éloigne les produits transformés de leur état originel. Pour maintenir l'état souhaité des aliments, certaines pratiques physiques sont utilisables (cuisson sous vide, conditionnement sous atmosphère modifiée...), mais l'emploi d'additifs rajoutés aux préparations est un moyen facile et économique de pallier les évolutions oxydatives, principale cause de dégradation hors celles des micro-organismes.

Bien que leur utilisation dans les formulations doive apporter une valeur ajoutée aux aliments sans être préjudiciable à la santé humaine, si la complexité de l'aliment final ingéré est ignorée, il peut en découler de graves problèmes toxicologiques dus aux synergies ou aux produits dérivés.

IV. Procédés d'extraction des huiles essentielles

L'extraction cherche à isoler d'un mélange végétal complexe, des constituants ou des composés possédant des propriétés chimiques différentes [55]. Il existe plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles. Ces techniques ne présentent pas le même degré d'efficacité à l'égard, d'une part des molécules très volatiles et peu polaires, et d'autre part des molécules peu volatiles et très polaires.

IV.1. Méthodes d'extractions conventionnelles

Les procédés traditionnels utilisés pour obtenir des huiles essentielles sont principalement la distillation, l'entrainement à la vapeur et l'extraction par solvant.

La distillation à la vapeur est une opération unitaire qui se base sur la différence de volatilité des composés présents dans la matière végétale. L'industrie préfère la distillation et l'entrainement à la vapeur en raison de leur simplicité et du coût faible du procédé [56]. Ce procédé utilise une chaudière pour générer de la vapeur, un extracteur, où on place la matière première à extraire, un condenseur et un flacon de collecte. La vapeur d'eau pénètre à travers le lit rempli en matière végétale. Le mélange vapeur-huile essentielle se déplace ensuite vers le condenseur, où le changement de phase se produit. Le condensat est introduit dans un récipient où la séparation se produit entre la phase aqueuse et la phase huileuse, en raison des différences de polarité.

Le procédé d'extraction utilisant un solvant consiste à placer un solvant organique en contact avec une matrice végétale. Après un temps suffisant pour permettre le transfert des composants solubles présents dans la plante, l'huile est obtenue suite à une évaporation du solvant.

Les procédés d'extraction traditionnels présentent certains inconvénients et limitations. Dans ces procédés, les constituants d'huiles essentielles peuvent subir une dégradation thermique ou hydrolyse. Un autre facteur important est la limitation de l'utilisation de solvants toxiques, puisque les huiles essentielles sont utilisées dans l'alimentation et les produits pharmaceutiques et cosmétiques.

Cependant, l'efficacité de l'extrait et sa qualité doivent constituer des priorités et, vu que les limites pour les résidus de solvant sont de plus en plus soumises à un examen attentif, les extraits obtenus à l'aide de fluides supercritiques pourraient bien jouer un rôle central à défaut d'autre

chose. Un des aspects les plus importants de toute extraction est probablement un substrat de plus haute qualité, ceci pouvant être un élément clé pour définir le processus d'extraction qui fournira le produit désiré.

IV.2. Extraction par CO_2 supercritique

L'extraction par fluide supercritique (SFE) est une technique de séparation qui utilise un fluide supercritique en tant que solvant. Tout fluide est caractérisé par son point critique, qui est défini en fonction de la température critique (T_c) et de la pression critique (P_c). Un fluide est dit supercritique si sa température et sa pression ont des valeurs supérieures à celles de son point critique [57,58].

Un fluide supercritique présente des propriétés physico-chimiques intermédiaires entre celles d'un liquide et un gaz, ce qui facilite son utilisation en tant que solvant d'extraction. Certaines caractéristiques font l'intérêt de cette technique notamment la masse volumique du fluide ; sa faible viscosité ; sa faible tension de surface ; une diffusivité élevée ; un pouvoir de solvatation et un potentiel de sélectivité élevé [59,60].

Dans la technique d'extraction avec un FSC, on exploite la combinaison du pouvoir solvant similaire à celui des liquides, et des propriétés de transport, similaires à celles des gaz, sachant que l'ensemble des propriétés du fluide, sont très sensibles aux changements de pression et de température notamment lorsqu'on s'approche du point critique. En fait, de faibles changements de pression et de température permettent d'effectuer des séparations difficiles ou complexes [61]. (Tableau 1)

Tableau 1 : Propriétés des gaz, des liquides et des fluides supercritiques [62].

	Densité (g/cm^3)	Viscosité (g/cm.s)	Diffusion (cm^2/s)
Gaz (101,3kPa ; 15 - 30°C)	$(0,6\text{-}2,0).10^{-3}$	$(1,0\text{-}3,0) \times 10^{-4}$	0,1 – 0,4
Fluide Supercritique TC, P_C	0,2 - 0,5	$(1,0\text{-}3,0) \times 10^{-4}$	$0,7 \times 10^{-3}$
T_C, $4P_C$	0,4 - 0,9	$(3,0\text{-}9,0) \times 10^{-4}$	$0,2 \times 10^{-2}$
Liquide (15 - 30°C)	0,6 - 1,6	$(0,2\text{-}3,0) \times 10^{-4}$	$(0,2\text{–}2,0) \times 10^{-5}$

En se basant sur la théorie du solvant à géométrie variable, il est possible d'augmenter le rendement d'extraction en faisant varier la masse volumique du CO_2. Sovova et al. [63] ont évalué l'influence de la pression et la température sur le rendement de l'extraction de la lutéine et du β-carotène, ils ont trouvé que la pression était la variable la plus importante, alors que pour la température, il est déconseillé d'aller au-delà de 60°C, puisque que les composés d'intérêt peuvent subir une dégradation thermique [64].

Une large gamme de fluides supercritiques peut être utilisée comme indiqué dans le tableau numéro2. L'eau, par exemple, a une température critique (T_C = 374,1°C) et une pression critique (P_C = 220 bar = 22,06 MPa) : les coordonnées du point critique sont élevées, ce qui contribue à un coût élevé du processus pour atteindre ces conditions. Le dioxyde de carbone, est le fluide

le plus largement utilisé, à cause des valeurs modérées de ses coordonnées critiques (T_C = 31,3°C et P_C = 74 bars = 7,38 MPa), cette propriété favorise l'extraction des composés thermolabiles avec une dégradation minimale [65-68].

Tableau 2 : Les coordonnées critiques de certains composants purs [67].

Composé	T_C (ºC)*	P_C (MPa)*
Ethylène	9,4	5,04
Dioxyde de carbone	31,1	7,38
Ethane	32,3	4,87
Peroxyde d'azote	36,6	7,26
Propane	96,8	4,25
n-Hexane	234,5	3,01
Acétone	235,1	4,70
Méthanol	239,6	8,09
Ethanol	240,9	6,14
Acétate d'éthyle	250,2	3,83
Eau	374,1	22,06

* T_C – Température critique, P_C – Pression critique.

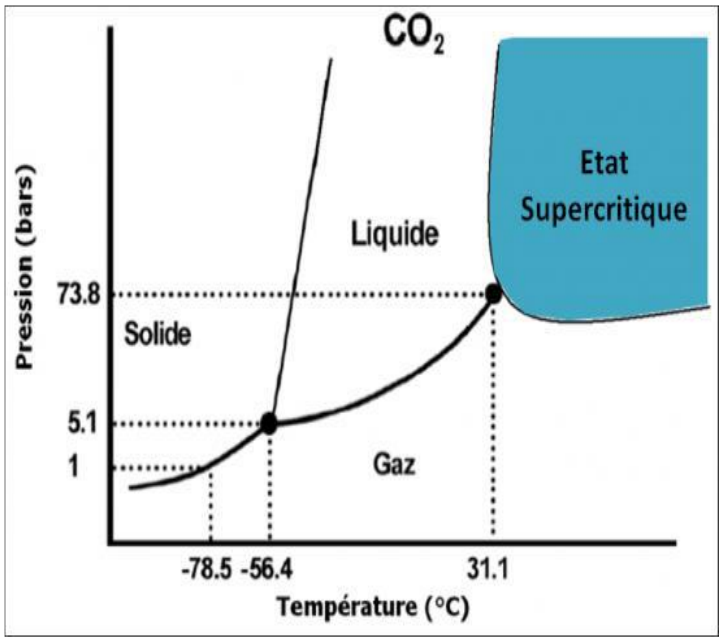


Figure 3. Diagramme de phase de CO_2 pur [68]

Le dioxyde de carbone à l'état supercritique est le solvant préféré dans des applications alimentaires. Il est non seulement pas cher et facilement disponible à un haut niveau de pureté, mais également il ne présente pas de danger à manipuler et préserve la qualité physiologique des aliments [69].

Selon [69], le fait que le dioxyde de carbone supercritique ait une température critique (31,1°C) proche de la température ambiante (25 °C) fait qu'il est reconnu comme solvant très intéressant pour le traitement des produits sensibles à la chaleur tels que les arômes, les pigments et les antioxydants. Cette propriété a été appuyée par l'étude de l'effet de la méthode d'extraction par CO_2 supercritique sur l'huile d'oignon, où les auteurs ont montré que l'extraction à une température modérée a donné un arôme caractéristique de l'oignon frais [70;71].

Les propriétés de solvatation du dioxyde de carbone supercritique peuvent varier sur une large plage de modification de la pression et de la température [72]. Cette propriété peut être utilisée pour réaliser une extraction hautement sélective des composés d'intérêt à basse température et sans ajout de solvants organiques [69].

Lorsqu'il est utilisé à de faibles masses volumiques, le CO_2 supercritique a une capacité limitée à dissoudre les molécules polaires. Toutefois, ce problème peut être évité par l'addition d'un solvant polaire pour modifier la polarité de CO_2. Cette deuxième composante est appelée un co-solvant ou modificateur. Cette substance, qui est liquide dans les conditions normales, a été largement utilisée pour modifier les propriétés de solvatation de CO_2 [70].

Malgré les avantages présentés par SFE, le processus a aussi quelques inconvénients, par rapport aux procédés classiques : le danger impliqué dans l'opération, la difficulté d'implanter une telle technologie pour les usines de petit et de moyen capital. En ce qui concerne les coûts, il faut tenir compte du fait que les produits obtenus par SFE ont une qualité supérieure, vu que l'extraction à basse température conserve la qualité des huiles et donne des arômes avec une qualité souhaitée. Actuellement, le coût des huiles essentielles a été jugé élevé, selon [71], et les procédés d'extraction utilisant le CO_2 supercritique sont devenus compétitifs. Il faut ajouter encore qu'il y a des cas où la SFE permet l'extraction de produits qui ne peuvent être obtenues par d'autres moyens [72].

L'extraction par fluide supercritique est une technique qui peut remplacer les procédés d'extraction traditionnelle (distillation, extraction liquide-liquide et l'extraction solide-liquide). Le choix du procédé d'extraction dépend de leur efficacité, de la matière première, du coût de la transformation, des caractéristiques physiques, de la destination et de l'utilisation du produit fini.

Enfin, l'approche de la SFE nécessite la connaissance des propriétés physico-chimiques, des données d'équilibre de phase et des modèles mathématiques pour simuler de manière fiable le processus d'extraction.

V. Modélisation de l'extraction des huiles essentielles en milieu supercritique

V.1. Méthode des plans d'expériences

Les plans d'expériences permettent d'organiser au mieux les essais qui accompagnent une recherche scientifique ou des études industrielles. Ils sont applicables à de nombreuses disciplines et à toutes les industries à partir du moment où l'on recherche le lien qui existe entre une grandeur d'intérêt, y, et des variables, x_i. Il faut penser aux plans d'expériences si l'on s'intéresse à une fonction du type :

$$Y=f(x_i)$$

Avec les plans d'expériences, on obtient le maximum de renseignements avec le minimum d'expériences [74]. Néanmoins, ces plans d'expériences ne permettent pas de localiser avec précision un optimum présent dans le domaine d'étude exploré, sa recherche est réalisée via la modélisation de la réponse étudiée et l'exploitation du modèle ajusté au moyen de différents outils mathématiques et statistiques [75].

V.2. Réponse, facteur, niveaux

La grandeur physique *« y »* mesurée par l'expérimentateur est appelée réponse, cette réponse varie en fonction des grandeurs physiques *« Ubi »* modifiables par l'expérimentateur, appelées facteurs. La fonction mathématique *« f »* reliant les facteurs à la réponse est un polynôme du premier ou second degré dans le cas des plans d'expériences. La valeur donnée à un facteur pour réaliser un essai est appelée niveau. Les variations des facteurs sont bornées par une valeur maximale et une valeur minimale appelées respectivement niveau haut et niveau bas, le code (-1) est affecté au niveau bas, et le code (+1) est affecté au niveau haut.

V.3. Domaine d'étude, surface de réponse

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, ou plus simplement, le **domaine** du facteur. La réunion des domaines de chaque facteur définit le « **domaine d'étude** » (figure 4). Ce domaine d'étude est la partie de l'espace expérimental retenu par l'expérimentateur pour faire ses essais. Une étude, c'est-à-dire un ensemble d'expériences bien définies, est représentée par une série de points disposés dans le domaine d'étude. A chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. A l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localisent sur une surface appelée la **Surface de réponse** [74].

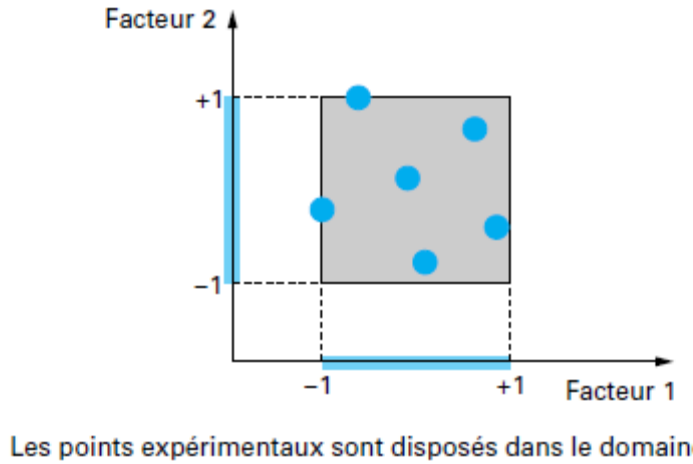


Figure 4. Définition du domaine d'étude par l'expérimentateur [73]

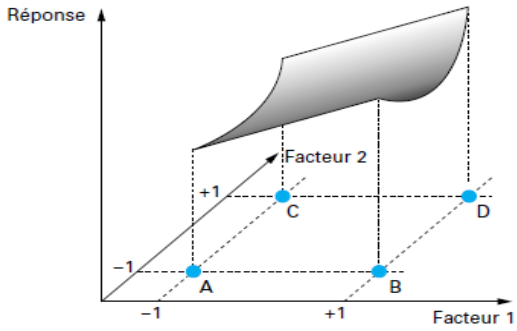


Figure 5. Définition de la surface de réponse [73]

V.4. Notion de modèle mathématique

Si l'expérimentateur réalise un essai en un point expérimental, il obtient une réponse y_i qu'il peut modéliser, selon le modèle du second degré avec interaction :

$$\hat{Y} = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \sum a_{ii} x_{ii}^2 \qquad \text{(eq1)}$$

- Y : est la grandeur à laquelle s'intéresse l'expérimentateur. C'est la réponse ou la grandeur d'intérêt. Elle est mesurée au cours de l'expérimentation et elle est obtenue avec une précision donnée.
- X_i : représente le niveau attribué au facteur i. C'est la valeur de la coordonnée du facteur i retenue par l'expérimentateur pour réaliser un essai. Cette valeur est parfaitement connue.
- a_0, a_i, a_{ij}, a_{ii} : sont les coefficients du modèle mathématique adopté. Ils ne sont pas connus et doivent être calculés à partir des résultats des expériences.

Cependant, il existe toujours un écart entre la valeur renvoyée par le modèle mathématique ($\hat{Y}$) et la valeur mesurée expérimentalement (Y), soit :

$$Y=\hat{Y}+e \qquad \text{(eq2)}$$

Deux raisons expliquent cet écart :

1. la réponse est une variable aléatoire, sa mesure est entachée d'une erreur expérimentale pure désignée par ε.
2. Le modèle choisi n'est pas le meilleur, il y a donc un écart systématique entre le modèle mathématique et le modèle postulé, cet écart est une variable non aléatoire, cette variable s'appelle le manque d'ajustement ou «lack of fit » qu'on note Δ [75].

V.4.1. Evaluation de la qualité de l'ajustement

Les valeurs des coefficients sont estimées par plusieurs types d'estimateur et le cas présent c'est la méthode des moindres carrés. Le modèle ajusté est évalué à l'aide des quatre outils statistiques suivants :

- La comparaison de la variance attribuable à la régression à la variance résiduelle, au moyen du test de Fisher, pour ce faire, on calcule ainsi :

$$F_{régression}=\frac{\sum(\hat{Y}_i-\bar{Y})^2/\nu_x}{\sum(Y_i-\bar{Y})^2/\nu_R} \quad \text{(eq3)}$$

Avec
$\bar{Y}$: valeur moyenne des réponses mesurées,
ν_x : Nombre de degrés de liberté associé à la somme des carrés des écarts à la moyenne de la régression,
ν_R: Nombre de degrés de liberté associé à la somme des carrés des résidus,
La valeur de ce rapport doit être supérieure à la valeur critique de Fisher à un niveau de confiance supérieur à 95% ($F_{0.05}(\nu_x, \nu_R)$) pour que la régression soit acceptée.

- Le coefficient de détermination de la régression multilinéaire R^2 qui est défini par le rapport de dispersion totale des résultats suivant :

$$R^2=\frac{\sum(\hat{Y}_i-\bar{Y})^2}{\sum(Y_i-\bar{Y})^2} \quad \text{(eq4)}$$

Plus la valeur de R^2 est proche de l'unité, meilleur est l'ajustement.

- Le coefficient de détermination ajusté (R_A^2)

$$R_A^2=1-\frac{\sum(Y_i-\hat{Y}_i)^2/\nu_R}{\sum(Y_i-\bar{Y})^2/\nu_T}=1-\frac{\sum e_i^2/\nu_R}{\sum(Y_i-\bar{Y})^2/\nu_T} \quad \text{(eq5)}$$

Avec :
ν_T, Le nombre de degré de liberté associé à la somme des carrés des écarts à la moyenne des réponses mesurées. Plus la valeur de R_A^2 est proche de 1, plus l'ajustement est meilleur.

- L'analyse graphique des résidus r_{ire} permet la vérification de la distribution autour de zéro au moyen du diagramme de Daniel [75].

V.4.2. Validation du modèle

L'exploitation du modèle ajusté n'est possible qu'après sa validation c'est-à-dire vérifier que, dans tout le domaine d'étude, sa qualité prévisionnelle est bonne. Dans la pratique, deux méthodes de validation sont utilisées :

- Analyse de manque d'ajustement

C'est une évaluation et comparaison entre les variances du manque d'ajustement expérimentales et résiduelles. En tenant compte des degrés de liberté associés à une somme de carré (SS), les expressions de ces variances sont les suivantes :

✓ **Variance résiduelle**

$$SS_R/\nu_R = \sum\left(Y_i - \hat{Y}_i\right)^2/\nu_R \qquad \text{(eq6)}$$

✓ **Variance expérimentale**

$$\frac{SS_E}{\nu_E} = \sum(Y_i - m_i)^2/\nu_E \qquad \text{(eq7)}$$

Avec m_i, moyenne des réponses d'une expérience répliquée plusieurs fois, en général au centre du domaine.

✓ **Variance du manque d'ajustement**

$$SS_\Delta/\nu_\Delta$$

Avec la variance due au manque d'ajustement (SS_Δ) et le nombre de degré de liberté (ν_Δ), qui lui est associé, sont donnés par l'expression suivante :

$$SS_\Delta = SS_R - SS_E \qquad \text{(eq8)}$$

$$\nu_\Delta = \nu_R - \nu_E$$

Le modèle est validé si la variance due au manque d'ajustement, est non significative, c'est-à-dire si la valeur du rapport F défini par :

$$F_\Delta = \frac{SS_\Delta/\nu_\Delta}{SS_E/\nu_E} \qquad \text{(eq9)}$$

est inférieure à la valeur critique de Fisher : $F_{0.05}(\nu_\Delta, \nu_E)$.

- Validation par les points tests

Le modèle est validé si les rapports t_{exp} sont inférieurs à la valeur critique de Student (au niveau de confiance 95% pour ν_R degrés de liberté) :

$$t_{exp} = \frac{Y_i - \hat{Y}_i}{\sqrt{б_{\Delta Y}}} = \frac{Y_i - \hat{Y}_i}{\sqrt{б_R{}^2(1+du)}} \qquad \text{(eq10)}$$

Avec
$б_R{}^2$: Variance résiduelle calculée avec ν_R degrés de liberté.
du : Fonction de variance de prédiction au point test considéré [74].

V.4.3. Variables codées

Etant impossible de comparer les variables ayant des unités différentes, il est nécessaire donc d'effectuer un codage pour surmonter ce problème. Notons alors *« x_i »* les valeurs des variables codées qui sont définies de la manière suivante :

$$X_i = \frac{u_i - u}{u'} \qquad \text{(eq11)}$$

Avec : $u = \frac{u_{\max\, i} + u_{\min i}}{2}$

et $u' = \frac{u_{\max\, i} - u_{\min i}}{2}$

Ainsi, les facteurs obtenus sont sans dimension, par conséquent directement comparables entre eux.

V.5. Systèmes d'équation

Après réalisation d'un plan d'expériences comportant n points expérimentaux, le système s'écrit d'une manière simple en notation matricielle :

$$Y = X\, a +$$

Avec
Y : vecteur des réponses.
X : matrice des effets.
a : vecteur des coefficients.
e : vecteur des résidus.

Ce système ne peut pas, en général, être résolu simplement car le nombre d'équations est inférieur au nombre d'inconnues. En effet, il y a n équations et (p + n) inconnues. Cette résolution ne peut être menée à bien que si l'on utilise une méthode de régression qui introduit p équations supplémentaires. La plupart du temps cette méthode est basée sur le critère d'optimisation des moindres carrés.

Nous obtenons ainsi les estimations les plus probables des coefficients que l'on note **â**.

Le résultat de ce calcul donne :

$$\mathbf{\hat{a}} = ({}^t\mathbf{X}\,\mathbf{X})^{-1}\ {}^t\mathbf{X}\,\mathbf{Y} \qquad \text{(eq12)}$$

Formule dans laquelle la matrice ${}^t\mathbf{X}$ est la matrice transposée de **X**.

Deux matrices interviennent constamment dans la théorie des plans d'expériences :

— la matrice d'information ${}^t\mathbf{X}\,\mathbf{X}$;

— la matrice de dispersion $({}^t\mathbf{X}\,\mathbf{X})^{-1}$

V.6. Dispersion des coefficients

Les statisticiens ont établi la formule qui donne l'erreur sur les coefficients du modèle lorsque l'on a une estimation du résidu.

Cette formule, sous sa forme la plus simple, est la suivante :

$$\mathrm{Diag}\mathbf{V}(\hat{\mathbf{a}}) = \mathrm{Diag}\sigma_r^2\,(tXX)^{-1} \qquad \text{(eq13)}$$

C'est-à-dire que les variances des coefficients sont égales à la variance du résidu, σ_r^2, multipliée par l'élément diagonal de la matrice de dispersion.

Les variances des coefficients sont les termes diagonaux de la matrice **V** (**â**). On obtient ces variances par identification [74].

V.7. Critères de D-optimalité

Si nous voulons avoir la plus petite variance possible sur l'ensemble des coefficients, il faut que les termes diagonaux de la matrice de dispersion soient eux-mêmes les plus petits possibles. Nous obtenons ce résultat en maximisant le déterminant de la matrice ${}^t\mathbf{X}\,\mathbf{X}$. Le critère correspondant s'appelle le critère de D-optimalité [75]. Afin d'expliciter le principe du critère de D-optimalité, il est nécessaire de revenir sur les bases de la régression multilinéaire. Si l'expérimentateur réalise un essai en un point expérimental, il obtient une réponse y_i qu'il peut modéliser, selon le modèle du second degré avec interaction :

$$y = a_0 + \sum_{i=1}^{5} a_i x_i + \sum_{i=2}^{5}\sum_{j=1}^{i-1} a_n x_i x_j + \sum_{i=1}^{5} a_{i+15} x_i^2 + e \quad \text{Avec} \quad \mathbf{n=2+j+\ Max\ (i,2i-3)} \qquad \text{(eq14)}$$

y représente la réponse analysée. Celle-ci est mesurée avec une certaine erreur, il s'agit donc d'une variable aléatoire. x_i sont les facteurs fixés dans le plan d'expérience, ils n'introduisent pas d'erreur. e est le résidu c'est-à-dire l'écart entre la valeur renvoyé par le modèle mathématique et la valeur mesurée expérimentalement. Ce résidu est également une variable aléatoire, centrée de variance σ_r^2.

Après réalisation d'un plan d'expériences comportant n points expérimentaux, on a un système de n équations à p coefficients a_i (i=0…20).

$$Y = Xa + e$$

Avec

Y : vecteur des réponses

X : matrice des effets

a : vecteur des coefficients

e : vecteur des résidus

Ce système ne peut être résolu directement puisque le nombre d'inconnues est supérieur au nombre des équations. Il s'agit d'un système de n équations à n + p inconnues (a et e).

Notre objectif est de trouver un jeu de p coefficients qui résout le mieux possible le système d'équations.

Considérons l'i^{ème} expérience, le résidu e_i est la somme de l'erreur d'ajustement du modèle Δ_i due à l'incertitude sur les paramètres et de l'erreur de mesure, σ_{mi}.

$$e_i = \Delta_i + \sigma_{mi} \qquad \text{(eq15)}$$

La variance d'erreur σ_r^2 est proportionnelle à la somme des carrées des écarts, qui s'écrit sous forme matricielle $e^t e$. Or, cette variance d'erreur est la somme de la variance d'erreur due à l'incertitude sur les paramètres Δ^2 et de la variance d'erreur de mesure, σ_m^2.

$$\sigma_r^2 = \Delta^2 + \sigma_m^2 \qquad \text{(eq16)}$$

La variance d'erreur de mesure, σ_m^2 dépend de l'expérimentation, et ne peut être réduite par des constructions théoriques. Seule la variance de l'erreur d'ajustement du modèle, Δ^2, peut être minimisée pour un jeu de paramètres donné. La recherche du minimum de variance d'erreur consistera à rechercher le jeu de paramètres minimisant la variance d'erreur σ_r^2. Elle sera minimale par rapport aux coefficients si : $\frac{\partial e^t e}{\partial a} = 0$

La relation représente p équations, c'est-à-dire une par coefficient. On se retrouve alors avec le système de n+p équations à n+p inconnues, qui peut être résolu :

$$\begin{cases} y = Xa + e \\ \dfrac{\partial e^t e}{\partial a} = 0 \end{cases} \qquad \text{(eq17)}$$

La résolution de ce système est :

$$\hat{a} = \left(X^t X\right)^{-1} X^t y$$

$$\hat{e} = y - X\left(X^t X\right)^{-1} X^t y \qquad \text{(eq18)}$$

Ces relations permettent d'estimer le jeu de coefficients du modèle ainsi que les résidus, ceci à partir des facteurs et des réponses mesurées. L'accent circonflexe montre qu'il s'agit de valeurs obtenues par la méthode de recherche du minimum de variance d'erreur.

Les jeux de coefficients ainsi obtenus sont utilisés pour écrire le modèle mathématique. Ce modèle permet de calculer les réponses dans le domaine d'étude.

- De même, une estimation de la variance de l'erreur de mesure, $(\sigma_m^2)_{est,}$ peut être réalisée à partir de $e^t e$. Pour le jeu de paramètres solution, la variance d'erreur d'ajustement, Δ, est petite devant la variance d'erreur de mesure, σ_m^2. $\hat{e}$ est un vecteur à n éléments, donc dans un espace à priori de dimension n. Cependant, ce vecteur est soumis à p

contraintes correspondant aux p paramètres. Son espace est alors de dimension (n-p). La variance d'erreur de mesure peut donc être estimée :

$$\left(\sigma_m^2\right)_{est} = \frac{\hat{e}^t \hat{e}}{n-p} \qquad \text{(eq19)}$$

Pour les paramètres, il est défini une région de confiance de niveau α telle que :

$$(a-\hat{a})^t X^t X(a-\hat{a}) \leq \frac{p}{n-p} \hat{e}^t \hat{e} F_\alpha(p, n-p) \qquad \text{(eq20)}$$

La région de confiance correspond à un ellipsoïde centré en â, dont le volume est proportionnel à l'inverse de déterminant de Fisher $X^t X$. Cette matrice est appelée « matrice d'information ». Le critère de D-Optimalité conduit à une dispersion des points expérimentaux qui maximise le déterminant de la matrice d'information et donc minimise le volume de région de confiance sur les paramètres.

Le principe de la D-Optimalité peut être mieux appréhendé si nous considérons la relation existante entre la variance d'erreur sur les coefficients et la variance d'erreur de mesure.

$$V(\hat{a}) = \sigma_m^2 \left(X^t X\right)^{-1} \qquad \text{(eq21)}$$

Dans cette relation, la matrice V(â) est la matrice des variances–covariance des coefficients. Les variances sont disposées sur la diagonale principale de V(â) et les covariances sont les éléments non diagonaux.

Pour déterminer les variances sur les coefficients du modèle, nous sommes amenés à calculer, l'inverse de la matrice d'information (matrice de dispersion) et donc à utiliser le déterminant de X^tX comme diviseur. Ainsi, une maximisation du déterminant de la matrice d'information conduira à une réduction des variances d'erreur sur les coefficients du modèle.

V.8. Utilisations possibles de la méthode des plans d'expériences

Les deux principales utilisations possibles de la méthode des plans d'expériences (MPE) sont :

- La technique de screening : parmi les facteurs recensés par l'expérimentateur, cet outil permet de déterminer ceux qui ont une influence statistiquement non négligeable sur les variations de la réponse. Nous procédons ainsi implicitement à une simplification du problème. Nous cherchons pourquoi la réponse varie.
- La méthodologie des surfaces des réponses : les variations de la réponse sont calculées en fonctions des facteurs précédemment jugés influents. Cette étude est d'avantage quantitative, le but étant de déterminer comment la réponse varie [76].

V.9. Différents plans d'expériences

V.9.1. Plan factoriels complets

Les plans factoriels complets sont des plans à deux niveaux, la matrice des effets X est une matrice orthogonale d'Hadamard, donc la matrice d'information devient :

$$^tXX = nI \qquad (eq22)$$

Ainsi les éléments de cette matrice sont +1 ou -1.

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.

On remarquera que cette notation indique également le nombre d'essais à effectuer.

V.9.2. Plans factoriels fractionnaires à deux niveaux 2^{k-q}

Les plans factoriels fractionnaires sont des plans à deux niveaux, ils permettent d'étudier tous les facteurs, ainsi qu'il réduit le nombre d'essais par rapport aux plans factoriels.

Un plan comportant k facteurs à deux niveaux est noté 2^{k-q}

- Le k en exposant signifie qu'il y a k facteurs étudiés.
- Le 2 indique le nombre de niveaux par facteur.
- Le plan complet a été divisé par 2^q.

Il y a donc 2^q essais à éliminer et 2^k essais à retenir pour l'étude, le choix de rejet ou de rétention de essais n'est possible qu'en connaissant convenablement la théorie des aliases [77,78].

V.9.3. Matrice des aliases

La réalisation de n expériences donnera n équations à p inconnues d'où l'impossibilité de la résolution de système ayant le modèle suivant :

$$Y = X a \qquad \textbf{(modèle 1)}$$

$$(n, 1) \quad (n,p) \quad (p, 1)$$

Nous pouvons écrire le modèle 2 sous la forme suivante :

$$Y = X_s \ell \qquad \textbf{(modèle 2)}$$

$$(n, 1) \quad (n,n) \quad (n, 1)$$

Avec

X_s : la matrice qui dépend de l'emplacement des points expérimentaux du plan fractionnaire et du modèle 2.

ℓ : les contrastes où sont regroupées les nouvelles inconnues.

La décomposition de la matrice X (n,p) donnera la relation existant entre cette dernière et X_s

$$X= [X_s \quad X_\beta] \qquad \text{(eq23)}$$

X_β : sous matrice de dimension (n,p-n).

Alors Y devient : $$Y= [X_s X_\beta]\begin{bmatrix} a_\alpha \\ a_\beta \end{bmatrix} \qquad \text{(eq24)}$$

Soit $$Y= X_s\, a_\alpha + X_\beta\, a_\beta$$

D'où :

$$\ell= a_\alpha+({}^tX_sX_s)^{-1}\ {}^tX_sX_\beta\, a_\beta \qquad \text{(eq25)}$$

avec ${}^tX_sX_\beta\, a_\beta$: matrice des aliases de dimension (n,p-n).

V.9.4. Plans de Plackett et Burman

Les plans de Plackett et Burman sont des plans à deux niveaux, la matrice des effets X est une matrice orthogonale d'Hadamard et les éléments de cette matrice sont uniquement +1 et -1.

Ces plans utilisent comme modèle mathématique des polynômes de premier degré sans interaction.

$$Y=a_0 + \sum a_i\, x_i \qquad \text{(eq26)}$$

Ils permettent également l'étude d'un grand nombre de facteurs avec un minimum d'essais. [73-76]

V.9.5. Tables de Tagauchi

Tagauchi propose d'organiser les expériences selon les tables qu'il les appelle L8 ou L16 ou L27 [77]. Les tables de Tagauchi sont des plans factoriels fractionnaires simplifiés dans lesquels +1 et -1 sont remplacés respectivement par 1 et 2, donc la table L8 par exemple, peut être considérée comme un plan factoriel fractionnaire 2^3 ou 24^{-1} ou 2^{5-2} ou 2^{6-3} ou 2^{7-4}.

L'objectif de cette simplification est de rendre ces plans accessibles à un grand nombre d'expérimentateurs, ces plans sont très utilisés dans le domaine de la qualité [78].

V.9.6. Plans de Koshal

Les plans de Koshal sont des plans à deux niveaux permettant la détermination directe de l'effet des facteurs sans évaluation des interactions. Le modèle mathématique est :

$$Y= a_0 + \sum a_i\, x_i$$

Pour un polynôme de degré d et de nombre de facteurs k, le nombre des coefficients, est donné par la formule :

$$N=\frac{(k+d)!}{d!k!} \qquad \text{(eq27)}$$

N est égal au nombre de points expérimentaux.

V.9.7. Plans composites

Un plan composite est constitué de trois parties (Figure 6) :

- Un plan factoriel à deux niveaux (les points A, B, C et D).
- Au moins, un point expérimental situé au centre du domaine d'étude (le point E).
- Des points axiaux ou un plan en étoile (les points F, G, H et I)

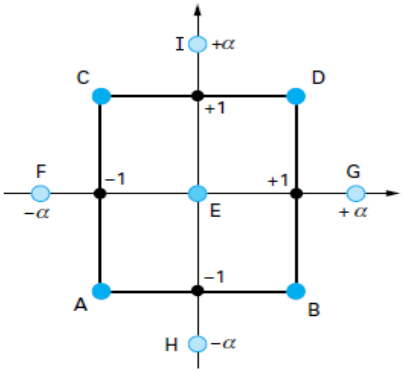


Figure 6. Plan composite pour deux facteurs

Les plans composites sont parfaitement adaptés à l'acquisition progressive des résultats [73].

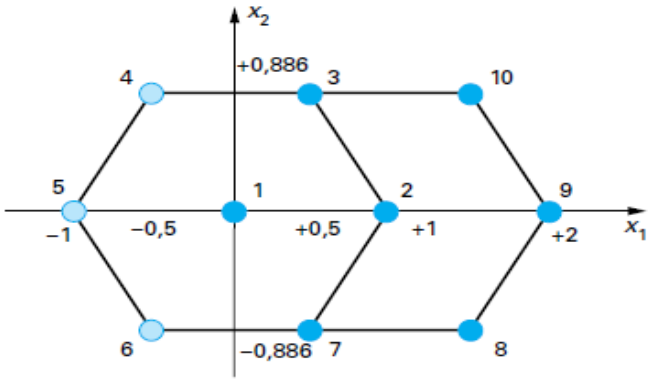
V.9.8. Plans de Doehlert

Doehlert a proposé une répartition uniforme des points expérimentaux dans l'espace expérimental [78]. Pour deux facteurs, tous les points sont à la même distance du centre du domaine expérimental et sont régulièrement disposés sur le cercle trigonométrique. Ils forment un hexagone régulier. Le premier facteur prend cinq niveaux et le deuxième prend trois niveaux, la matrice représentant ce plan est présentée par le tableau 3 :

Tableau 3 : Matrice de Doehlert

N° de l'essai	x_1	x_2
1	0	0
2	−1	0
3	+1	0
4	−1/2	$-\sqrt{3}/2$
5	+1/2	$-\sqrt{3}/2$
6	−1/2	$+\sqrt{3}/2$
7	+1/2	$+\sqrt{3}/2$

Pour mieux connaître le domaine expérimental, l'expérimentateur peut ajouter des points d'expériences supplémentaires (figure 7) et retrouve une disposition identique à celle de départ [76].



Les points 1 à 7 illustrent un premier plan de Doehlert.
Les trois points 8, 9 et 10 illustrent les expériences supplémentaires.
Les points 2, 7, 8, 9, 10, 3 et 1 illustrent un deuxième plan de Doehlert.

Figure 7. Plan de Doehlert

Dans un espace à trois dimensions, la répartition des points expérimentaux est représentée par une sphère de rayon unité puisque six nouveaux points s'ajoutent aux points de l'hexagone et chaque point forme avec ses voisins les plus proches un tétraèdre régulier.

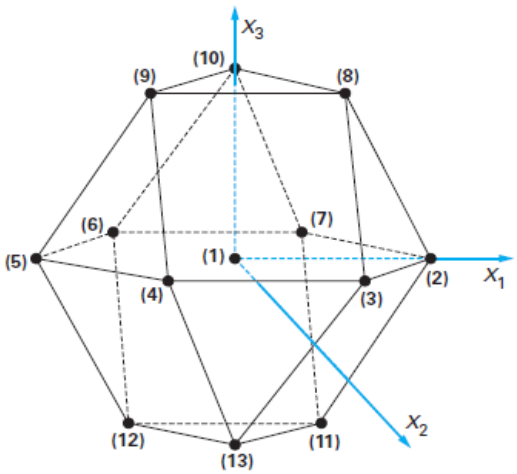


Figure 8. Disposition des points expérimentaux d'un plan de Doehlert pour trois facteurs

Pour un plan de Doehlert à trois facteurs (figure 8), le premier et le deuxième facteur prennent cinq niveaux, le troisième prend trois niveaux, la matrice correspondante est représentée par le tableau 4 :

Tableau 4: Matrice de Doehlert à 3 facteurs

N° de l'essai	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	0	0	0
2	-1	0	0
3	1	0	0
4	$-1/2$	$-\sqrt{3}/2$	0
5	$+1/2$	$-\sqrt{3}/2$	0
6	$-1/2$	$+\sqrt{3}/2$	0
7	$+1/2$	$+\sqrt{3}/2$	0
8	$-1/2$	$-1/2\sqrt{3}$	$-\sqrt{2/3}$
9	0	$+1/\sqrt{3}$	$-\sqrt{2/3}$
10	$+1/2$	$-1/2\sqrt{3}$	$-\sqrt{2/3}$
11	$-1/2$	$+1/2\sqrt{3}$	$+\sqrt{2/3}$
12	0	$-1/\sqrt{3}$	$+\sqrt{2/3}$
13	$+1/2$	$1/2\sqrt{3}$	$+\sqrt{2/3}$

Pour un plan de Doehlert à quatre facteurs, il est difficile de définir les niveaux de chaque facteur donc il faut utiliser des matrices préparées à l'avance, par exemple la matrice à quatre facteurs représentée par le tableau 5 :

Tableau 5: Matrice de Doehlert à 4 facteurs

N° de l'essai	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3	Facteur 4
1	0	0	0	0
2	-1	0	0	0
3	1	0	0	0
4	$-1/2$	$-\sqrt{3}/2$	0	0
5	$+1/2$	$-\sqrt{3}/2$	0	0
6	$-1/2$	$+\sqrt{3}/2$	0	0
7	$+1/2$	$+\sqrt{3}/2$	0	0
8	$-1/2$	$-1/2\sqrt{3}$	$-\sqrt{2/3}$	0
9	0	$+1/\sqrt{3}$	$-\sqrt{2/3}$	0
10	$+1/2$	$-1/2\sqrt{3}$	$-\sqrt{2/3}$	0
11	$-1/2$	$+1/2\sqrt{3}$	$+\sqrt{2/3}$	0
12	0	$-1/\sqrt{3}$	$+\sqrt{2/3}$	0
13	$+1/2$	$1/2\sqrt{3}$	$+\sqrt{2/3}$	0
14	$-1/2$	$-1/2\sqrt{3}$	$-1/\sqrt{24}$	$-\sqrt{5/8}$
15	0	$+1/\sqrt{3}$	$-1/\sqrt{24}$	$-\sqrt{5/8}$
16	0	0	$\sqrt{3/8}$	$-\sqrt{5/8}$
17	$1/2$	$-1/2\sqrt{3}$	$-1/\sqrt{24}$	$-\sqrt{5/8}$
18	$-1/2$	$1/2\sqrt{3}$	$1/\sqrt{24}$	$\sqrt{5/8}$
19	0	$-1/\sqrt{3}$	$1/\sqrt{24}$	$\sqrt{5/8}$
20	0	0	$-\sqrt{3/8}$	$\sqrt{5/8}$
21	$1/2$	$1/2\sqrt{3}$	$1/\sqrt{24}$	$\sqrt{5/8}$

Cette matrice correspond à vingt et un points régulièrement répartis sur l'hyper sphère à quatre dimensions de rayon unité.

Les plans de Doehlert permettent d'obtenir des modèles de second degré avec un minimum d'essais. Le modèle mathématique utilisé dans ce cas pour l'interprétation des résultats et pour la construction des surfaces de réponse est un polynôme de second degré avec interaction [76-78].

Malgré que les plans d'expérience soient un outil très performant pour comprendre et optimiser un tel procédé, ils restent toujours limités et très spécifiques et ne peuvent pas être généralisés. Chaque optimisation par la méthode des plans d'expériences n'est applicable que pour une situation particulière.

La modélisation à partir du plan d'expériences ne se base pas sur des explications physiques du phénomène étudié. Etant donné que cette étude n'est qu'une analyse des effets des facteurs sur des réponses qu'on choisit en avance. La modélisation avec les modèles de reconnaissance reste toujours un outil ou un moyen qui peut servir et aider les chercheurs à comprendre un tel procédé sur des bases solides.

VI. Modélisation avec des modèles de reconnaissances

VI.1. Courbe de cinétique d'extraction

L'allure de la courbe de l'extraction dans une matrice solide avec un fluide supercritique peut être représentée par une courbe de cinétique d'extraction, la quantité d'extrait recueillie au cours du processus est représentée en fonction du temps ou en fonction de la quantité du solvant utilisé [80].

Les courbes d'extraction sont réalisées à partir de la masse totale de l'huile obtenue en fonction du temps d'extraction, cette relation peut être décrite par la relation représentée par l'équation 28.

$$m_{total} = Q_{CO_2} \int_0^{t_{total}} Y(t)dt \qquad \text{(eq28)}$$

Avec :

m_{total} : Masse totale de l'huile extraite (kg)

Q_{CO_2} : Débit du solvant (kg/s)

$Y(t)$: Concentration de l'huile en fonction du temps d'extraction

La figure 9 montre deux types de courbes d'extraction. La première partie des deux courbes (ligne) correspond à la première étape d'extraction (période de CER ou période d'extraction à vitesse constante), où la surface extérieure de la particule est recouverte d'une couche d'huile et le solvant entraine la couche de cette surface au cours de l'étape de transfert de masse principalement influencée par l'effet de convection. La deuxième partie (en pointillé) est la courbe FER (période de taux d'extraction réduite), cette étape caractérisée par une diminution du taux d'extraction, dans laquelle les deux effets de la convection et de la diffusion dans la phase solide sont responsables de la détermination du taux d'extraction (en pointillés).

La troisième phase, qui n'est représentée que dans la courbe I correspond à la phase de diffusion où le soluté dans la surface solide subit un épuisement en déclenchant la fin du processus d'extraction, à cette étape la matrice solide est totalement épuisée et le phénomène de diffusion de la phase solide est prédominant [79,80].

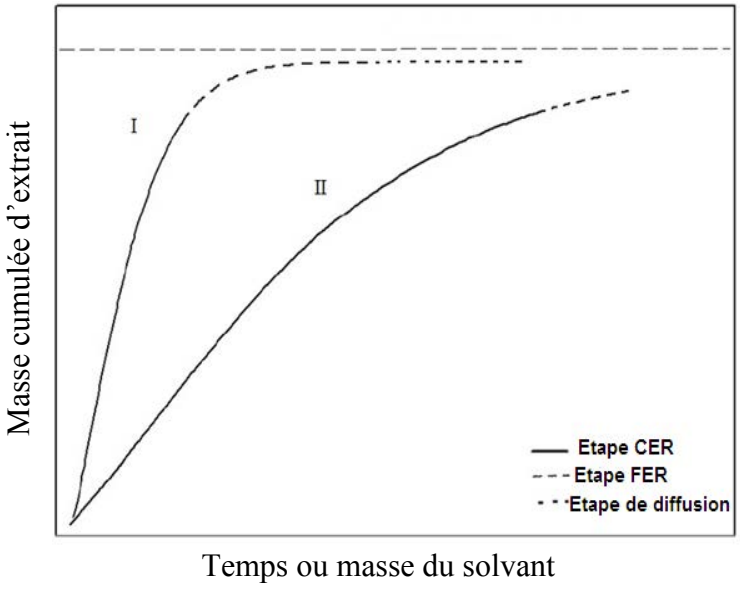


Figure 9. Allure générale d'une courbe de cinétique d'extraction par un fluide supercritique dans un milieu poreux

La courbe I est typique pour les solides ayant une forte concentration initiale en extrait. A l'étape CER, le transfert de masse est commandé par la constante d'équilibre entre la phase fluide et l'extrait, avec une faible résistance au transfert de masse externe. La courbe II représente le cas où la concentration initiale du soluté dans la matrice solide est faible, au bien le soluté est inaccessible au solvant, dans ce cas, comme dans l'étape FER de la courbe I, la résistance au transfert de masse interne est dominante [79].

En général, pendant la période CER on arrive à extraire de 50-90% de la totalité de l'extrait et l'optimisation du processus doit être réalisée à ce stade [79].

Sovová [79] a montré qu'à partir des courbes d'extraction, les modèles mathématiques élaborés pour les systèmes utilisant des fluides supercritiques peuvent avoir des solutions simples, et ainsi permettre la détermination des conditions d'extraction optimales.

L'analyse des courbes d'extraction nous offre la possibilité d'obtenir des renseignements importants sur la méthode d'extraction. Le rapport massique du soluté dans le fluide pendant la phase CER (Y_{CER}) est représenté par la pente de la droite ajustée aux données expérimentales (masse de l'extrait en fonction du temps d'extraction). Le taux de transfert de masse pour la période de CER (M_{CER}) est déterminé par le rapport entre le Y_{CER} et le flux de solvant.

L'optimisation des procédés utilisant des fluides supercritiques nécessite la connaissance des facteurs qui ont une influence ainsi que l'aspect économique d'un procédé d'extraction. Il convient donc de trouver des conditions de fonctionnement qui optimisent le rendement d'extraction à partir des matières premières végétales, sans compromettre la qualité du produit, ce qui lui confère une forte valeur ajoutée [80].

La conception d'un procédé d'extraction en utilisant un fluide supercritique dans des milieux poreux, devrait non seulement avoir des informations concernant la caractérisation du lit et l'optimisation des paramètres du procédé (pression, température, débit du solvant, tension superficielle, la densité apparente d'écoulement…), mais également nous devons prendre en compte la solubilité du soluté dans la phase supercritique [81].

L'idéal pour une matrice exposée à une extraction en milieu supercritique est d'avoir des particules solides finement broyées, qui ont une bonne perméabilité, permettant une grande exposition de soluté au solvant [82].

Un autre facteur très important et primordial dans le processus d'extraction, est la solubilité qui peut être déterminée expérimentalement par des méthodes statiques et / ou dynamiques, et elle est définie comme étant la concentration maximale de soluté dissous dans la phase solvant à la sortie de l'extracteur pour une condition donnée de température et de pression. A cet effet, la colonne d'extraction doit être suffisamment longue, ou le flux de solvant suffisamment bas pour garantir un temps de contact ou un temps de séjour suffisant, ce qui permet une saturation de l'huile dans le solvant à la sortie de l'extracteur [81-83].

VI.2. Rendement d'extraction

Le rendement est défini comme le rapport entre la masse extraite et la masse de matière végétale sèche selon l'équation 29.

Le rendement global (X_0) est obtenu à partir des courbes globales d'extraction et il est défini comme la quantité maximale du soluté qui peut être extraite à partir de la matrice solide aux conditions données de température et de pression [83].

$$\text{Rendement}(\%) = \frac{\text{Masse d'extrait}}{\text{Masse de la matière sèche}} \qquad \text{(eq29)}$$

Selon Mezzomo et al. [84], l'extraction par fluide supercritique de matières premières végétales en utilisant le CO_2 comme solvant fournit le contenu de matières extractibles pour 1-10%, à l'exception du clou de girofle, dont le rendement peut atteindre 18,2% pour Ivanovic [85] et de 17,1% pour Martínez [86]. Le faible rendement de l'extraction des plantes nous conduit à réaliser une optimisation pour comprendre le processus d'extraction afin de l'améliorer. La modélisation mathématique représente un moyen de comprendre et d'optimiser les phénomènes d'extraction, pour arriver à extraire le maximum du produit qui influence par la suite le coût d'extraction.

VI.3. Modélisation mathématique

Les modèles mathématiques jouent un rôle pour le dimensionnement de l'installation d'extraction et également dans le contrôle et l'amélioration des procédés. Pour l'application

industrielle d'un procédé impliquant un fluide supercritique, il est très important d'avoir une connaissance approfondie des modèles qui permettent de corréler et d'extrapoler les données expérimentales [86].

La modélisation mathématique du procédé a été utilisée par plusieurs auteurs pour reproduire des données expérimentales et par la suite ajuster les paramètres qui contribuent à la simulation de procédés d'extraction à différentes échelles et pour différentes conditions de fonctionnement [87-89].

La littérature nous a fourni une gamme très large des modèles mathématiques plus ou moins complexes décrivant un procédé d'extraction. A l'aide de ces modèles, on cherche toujours à avoir un résultat plus fiable, conforme à la réalité du processus d'extraction.

Goto et al. [90], ont réalisé un travail en matière de modélisation mathématique des processus d'extraction en milieu supercritique, où ils ont proposé un modèle basé sur les bilans différentiels et les lois de conservation de la masse pour un procédé d'extraction de l'huile de canola.

Reverchon et al. [91], ont proposé un modèle mathématique pour EFSC d'huiles essentielles et de cires à partir des matrices herbacées. Le modèle se base sur des bilans différentiels dans une particule sphérique, en tenant compte de la diffusion interne, donnée par l'équation (eq30). Dans ce modèle, l'absence de de dispersion axiale dans la phase a donné une égalité de profils radiaux de toutes les particules.

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D_i\left[\frac{1}{r^2}.\frac{\partial}{\partial r}\left(r^2\frac{\partial C}{\partial r}\right)\right] \qquad \text{(eq30)}$$

Avec :

C : concentration du soluté dans le solide (kmol/m^3)

D_i : diffusion du soluté dans la phase solide (m^2/s)

r : coordonnée radiale (m)

t : temps (s)

Goto et al. [92] ont présenté un modèle mathématique pour l'extraction d'huile essentielle de menthe, basé sur un équilibre local l'adsorption de l'huile essentielle et des lipides en considérant les particules comme des plaques planes. La constante d'équilibre dans ce modèle est le paramètre ajustable. La diffusion dans les pores et le transfert de masse de la particule au fluide se produisent selon un gradient d'une force d'entraînement de type linéaire. L'évaluation globale a été effectuée sur la particule en termes de concentration moyenne. Le modèle complet est représenté par les équations (eq31), (eq32) et (eq33):

$$\alpha\frac{dC}{dt} + \frac{C}{\tau} = -(1-\alpha)k_p a_p.\left(C - \overline{C}_i\right) \qquad \text{(eq31)}$$

$$\beta \frac{d\overline{C}_i}{dt} = k_p a_p.\left(C - \overline{C}_i\right) - \left(1-\beta\right)\frac{dC_s}{dt} \qquad \text{(eq32)}$$

$$\overline{C}_s = K\overline{C}_i \qquad \text{(eq33)}$$

Avec

a_p : Surface superficielle spécifique (m^{-1})

C : Concentration du soluté dans la phase fluide (kg/m^3)

$\overline{C}_i$: Concentration moyenne du soluté dans les pores (kg/m^3)

$\overline{C}_s$: Concentration moyenne du soluté dans le solide (kg/m^3)

K : Constante d'équilibre d'adsorption (adimensionnel)

k : Coefficient de transfert de masse combiné (m/s)

α : Porosité du lit (adimensionnel)

β : Porosité du solide (adimensionnel)

τ : Temps de séjour(s)

SOVOVÁ [79] a étudié le phénomène d'extraction des huiles essentielles à partir d'une matrice végétale à l'aide d'une modélisation mathématique. Dans ce travail, la phase solide a été partagée en des cellules ouvertes et des cellules intactes. Ainsi, le soluté facilement accessible depuis les cellules ouvertes est rapidement éliminé, par contre l'extraction du soluté contenu dans des cellules intactes se produit plus lentement. Cette étude visait à combiner les équations pour les deux périodes dans un modèle unique avec une solution analytique simple. Les équations décrivant le modèle sont les suivantes :

$$\left.\begin{array}{ll} O = P + K & \text{(eq33)} \\ x(t=0) = x_0 = \dfrac{O}{N} = x_p + x_k = \dfrac{P}{N} + \dfrac{K}{N} & \text{(eq34)} \end{array}\right\} \text{Bilan de masse du soluté}$$

$$-\rho_s(1-\varepsilon).\frac{\partial x}{\partial t} = J(x,y) \qquad \text{(eq35) Bilan dans la phase solide}$$

$$\rho\varepsilon\frac{\partial y}{\partial t}\rho U\frac{\partial y}{\partial H} = J(x,y) \qquad \text{(eq36) Bilan dans la pahse fluide}$$

$$J(x \succ x_k, y) = k_f a_0 \rho.(y_r - y) \qquad \text{(eq37) Transfert de masse dans l'étape rapide}$$

$$J(x \le x_k, y) = k_s a_0 \rho_s.(x - x^+) \qquad \text{(eq38) Transfert de masse dans l'étape lente}$$

Avec

a_0 : Aire interfaciale spécifique (m^{-1})

H : Coordonnée axiale (m)

J : Flux de transfert de masse ($kg.m^{-3}s^{-1}$)

k_f : Coefficient de transfert de masse dans la phase fluide (m/s)

k_s : Coefficient de transfert de masse dans la phase solide (m/s)

K : Masse initiale du soluté difficilement accessible (kg)

N : Masse du solvant pauvre du soluté (kg)

O : Masse initiale du soluté dans la phase solide (kg)

P : Masse initiale du soluté facilement accessible (kg)

t : Temps (s)

U : Vitesse superficielle du solvant (m/s)

x : Concentration de l'huile dans la phase solide libre (accessible)

x_k : $\frac{K}{N}$ (kg d'huile/kg du solide)

x^+ : Concentration à l'interface dans la phase solide (kg d'huile/kg de solide)

y : Concentration dans la phase fluide relative à la concentration initiale

y_r : Solubilité (kg d'huile/kg de solvant)

ε : Porosité du lit (adimensionnel)

ρ : Masse volumique du solvant ($kg.m^{-3}$)

ρ_s : Masse volumique du solide (kg.m-3)

Spricigo et al. [93], ont utilisé un modèle qui considère une particule sphérique contenant un noyau central où se focalise le soluté et qui se rétrécit pendant l'extraction. Ce modèle est appelé dans la littérature modèle du « cœur rétrécissant ». Les auteurs ont utilisé deux paramètres ajustables (solubilité et diffusivité effective). Le modèle est constitué des équations suivantes :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \nu \frac{\partial C}{\partial z} = D_L \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \frac{3k_f}{R}\left(C - C_i(R)\right) \qquad \text{(eq39)}$$

$$\frac{\partial \overline{q}}{\partial t} = \frac{3k_f}{R}\left(C - C_i(R)\right) \qquad \text{(eq40)}$$

$$\frac{D_e}{r^2} . \frac{\partial}{\partial r}\left(r^2 . \frac{\partial C_i}{\partial r}\right) = 0 \qquad \text{(eq41)}$$

$$\frac{\overline{q}}{q_0} = \left(\frac{r_c}{R}\right)^3 \qquad \text{(eq42)}$$

conditions aux limites:

$r = r_c$; $\quad C_i = C_{sat}$

$r = R$; $\quad \left(D_e \frac{\partial C_i}{\partial r}\right)_{r=R}$

$z = 0$; $\quad \nu . C - D_L \frac{\partial C}{\partial z}$

$z = L$; $\quad \frac{\partial C}{\partial z} = 0$

Conditions intialies:

$$\begin{cases} C = 0 & \text{pour } t = 0 \\ C_i = C_{i_0} & \text{pour } t = 0 \\ r_c = R & \text{pour } t = 0 \end{cases}$$

Avec

C : Concentration de l'huile dans la phase fluide ($kg.m^{-3}$)

C_i : Concentration de l'huile dans les pores ($kg.m^{-3}$)

C_{sat} : Concentration de saturation (solubilité) de l'huile dans la phase fluide ($kg.m^{-3}$)

D_e : Constante de diffusion effective (m^2/s)

D_L : Coefficient de dispersion axiale (m/s)

k_f : Coefficient de transfert de masse dans le film externe (m/s)

L : Hauteur du lit (m)

$\overline{q}$: Concentration moyenne de l'huile dans la phase solide ($kg.m^{-3}$)

q_0 : Concentration initiale de l'huile dans la phase solide ($kg.m^{-3}$)

r : Coordonnée radiale (m)

R : Rayon des particules (m)

r_c : Rayon critique (m)

t : Temps (s)

z : Coordonnée axiale (m)

ε : Porosité du lit

ν : Vitesse interstitielle du solvant (m/s)

Reverchon [80] a proposé un modèle pour l'extraction de l'huile essentielle de sauge. Les résultats ont montré que le transfert de masse interne est l'étape la plus importante de l'extraction. Il a été démontré que la forme des particules est un facteur important dans l'ajustement des données expérimentales. Le modèle a examiné le profil axial de la colonne et une relation linéaire entre les concentrations en phase solide et en liquide a été établie. Ce modèle est représenté par les équations suivantes :

Phase fluide :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \nu \frac{\partial C}{\partial z} + \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} . \frac{\partial \overline{C}}{\partial t} = 0 \qquad \text{(eq43)}$$

Phase solide :

$$(1-\varepsilon).V . \frac{\partial C}{\partial t} = -A_p . K . \left(\overline{C} - \overline{C}^*\right) \qquad \text{(eq44)}$$

$$C = k_p \overline{C}^* \qquad \text{(eq45)}$$

$$t_1 = \frac{(1-\varepsilon).V}{A_p . K} \qquad \text{(eq46)}$$

$$t_i = f . \frac{l^2}{D_i} \qquad \text{(eq47)}$$

Avec

A_p : surface totale des particules (m^2)

C : concentration de l'huile dans la phase fluide ($kg.m^{-3)}$

$\overline{C}$: Concentration de l'huile dans la phase solide ($kg.m^{-3}$)

$\overline{C}^*$: Concentration de l'huile dans la phase solide à l'interface solide-fluide ($kg.m^{-3}$)

Di : Coefficient de diffusion interne ($m^2.s^{-1}$)

f : Coefficient qui dépend de la géométrie de la particule:

f= $\frac{3}{5}$ pour une sphère

f= $\frac{1}{2}$ pour un cylindre

f= $\frac{1}{3}$ pour une plaque

l : Rapport du volume de la particules et sa surface externe (m)

t : Temps (s)

t_i : Temps du diffusion interne (s)

V : Volume de l'extracteur (m^3)

z : Coordonnée axiale (m)

ε : Porosité du lit

ν : vitesse interstitielle du solvant (m/s)

Reverchon et al [91, ont montré l'effet de l'organe de la plante (feuilles, graines, racines, fleurs) sur le phénomène de transfert de masse. Plusieurs modèles ont été testés, et les résultats montrent que le meilleur était un modèle à un seul paramètre ajustable, qui est représenté par l'écart par rapport à l'état d'équilibre en raison d'une faible résistance au transfert de masse externe. Les équations suivantes décrivent ce modèle :

Phase fluide :

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \nu \frac{\partial C}{\partial z} = D_L \cdot \frac{\partial^2 C}{\partial z^2} - \frac{1-\varepsilon}{\varepsilon} \cdot \frac{\rho_s}{\rho} \frac{\partial q}{\partial t} = 0 \qquad \text{(eq48)}$$

Phase solide:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_e.a.\left(C^* - C\right) = k_e.a.\left[\left(\frac{q}{K}\right) - C\right] \qquad \text{(eq49)}$$

Avec

a : Aire superficielle spécifique des particules (m^{-1})

C : Concentration du l'huile dans la phase fluide ($kg.m^{-3}$)

C^* : Concentration de l'huile dans la phase fluide à l'interface ((kg de l'huile/kg de solide)

D_L : Coefficient de dispersion axial (m/s)

$K=\frac{q}{C}$: Constante d'équilibre (kg d'huile /kg de solide)

k_e : Résistance externe au transfert de masse (m/s)

q : Concentration de l'huile dans la phase solide (kg d'huile/kg de solide)

t : Temps (s)

z : Coordonnée axiale (m)

ε : Porosité du lit (adimensionnel)

ν : Vitesse interstitielle du solvant (m/s)

ρ : Masse volumique du solvant ($kg.m^{-3}$)

ρ_s : Masse volumique du solide ($kg.m^{-3}$)

Goto et al. [92] ont présenté un modèle qui comprend l'interaction du soluté solide et la solubilité dans la phase liquide, avec ce modèle il a obtenu de bons résultats pour l'EFSC de feuilles de menthe. Ce modèle est constitué de l'équation représentée ci dissous, en utilisant, dans ce cas, l'équation d'équilibre d'adsorption BET :

$$\frac{\overline{C}_s}{C_m}=\frac{K\left(\frac{\overline{C}_i}{C_{sat}}\right)}{\left(1-\frac{\overline{C}_i}{C_{sat}}\right).\left[1+(K-1).\frac{\overline{C}_i}{C_{sat}}\right]} \qquad \text{(eq50)}$$

Avec

$\overline{C}_i$: Concentration moyenne du soluté dans les pores ($kg.m^{-3}$)

C_m : Constante qui correspond à la quantité maximale absorbé dans le cas du lit avec une monocouche ($kg.m^{-3}$)

$\overline{C}_s$: Concentration moyenne de l'huile dans la phase solide ($kg.m^{-3}$)

Csat : Concentration de saturation (solubilité) de l'huile dans la phase fluide ($kg.m^{-3}$)

K : Constante d'équilibre d'adsorption

Reis Vascou et al. [94] ont étudié l'extraction avec fluide supercritique de menthe (feuilles et fleurs), et ont proposé un modèle mathématique basé sur une étape de désorption, suivie d'une période au cours de laquelle une résistance au transfert de masse interne gouverne le processus d'extraction. Le modèle est constitué des équations suivantes :

Etape de désorption :

$$\left(1+\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}.\frac{\rho_s}{\rho}K_{eq}\right).\frac{\partial C}{\partial t}+\nu.\frac{\partial C}{\partial z}-D_L\frac{\partial^2 C}{\partial z^2}=0 \qquad \text{(eq51)}$$

$$q=K_{eq}C \qquad \text{(eq52)}$$

Avec

K_{eq} : constante d'équilibre de désorption ($kgCO_2$/kg du solide)

conditions initiales :

$t=0, \quad C=C_0 \qquad z \succ 0$

conditions aux limites

$z=0, \qquad \nu.C-D_L\frac{\partial C}{\partial z}=0, \quad t \succ 0$

$z=L \qquad \frac{\partial C}{\partial z}=0 \qquad t \succ 0$

Période de résitance interne aux transfert de masse :

$$\frac{\partial C}{\partial t}+\nu\frac{\partial C}{\partial z}=D_L\frac{\partial^2 C}{\partial z^2}-\frac{1-\varepsilon}{\varepsilon}.\frac{\rho_s}{\rho}.\frac{\partial q}{\partial t} \qquad \text{(eq53)}$$

$$\frac{\partial q}{\partial t}=-K_i.a.(q-q^*) \qquad \text{(eq54)}$$

$$q^*=K_{eq}.C, \qquad \text{(eq55)}$$

Avec

K_i : Coefficient de transfert de masse interne

q^* : Concentration de l'huile dans le solide, à l'interface (kg de l'huile/kg de solide)

Reverchon et al [91], ont étudié le procédé d'extraction supercritique de l'huile à partir de graines, et ils ont montré que la taille des particules est l'un des paramètres qui contrôle la vitesse d'extraction. Ces auteurs ont utilisé la microscopie électronique à balayage pour

observer la microstructure des cellules, la détermination de la forme et la taille des cellules de graines de tournesol, de raisin et la tomate. Sur cette base, ils ont proposé un modèle qui tient compte du soluté solide présent dans les deux phases distinctes. Une phase qui contient du soluté dans la structure interne des particules et l'autre phase contient le soluté "libre". Le modèle est constitué des équations suivantes :

$$\varepsilon.\rho.\frac{\partial C}{\partial t}+\rho.u.\frac{\partial C}{\partial z}+(1-\varepsilon)\Phi_t.\rho_s.\frac{\partial P}{\partial t}+(1-\varepsilon)\Phi_f\rho_0\frac{\partial \psi}{\partial t}=0 \qquad \text{(eq56)}$$

$$\rho\frac{\partial \psi}{\partial t}=-\frac{k_f a(\rho_0-K_\psi C)}{(1-\varepsilon)\varphi_f} \qquad \text{(eq57)} \qquad \text{Lorsque } \psi > 0 \text{ et } \frac{\partial \psi}{\partial t}=0$$

$$\rho\frac{\partial \psi}{\partial t}=-\frac{k_f a(P-K_p)}{(1-\varepsilon)\varphi_t} \qquad \text{(eq58)}$$

Conditions initiales :

t=0 : C=0 ; P=P_0 ; $\psi=\psi_0$ ($\forall$ z)

Conditions aux limites :

z=0 : C=0 ($\forall$ t)

z=L : $\frac{\partial C}{\partial z}=0$ ($\forall$ t)

Les valeurs de ϕ_t et ϕ_f ont été déterminées à partir de l'image des particules obtenu à l'aide d'un microscope électronique à balayage.

La valeur C_0 a été déterminée à partir de la courbe de la variation du rendement en fonction de la quantité du solvant utilisée.

ψ_0, P_0 et ρ_s ont été déterminés à partir des équations de bilan de masse suivantes :

$$\rho_0(1-\varepsilon).\varphi_f=\rho_0.(1-\varepsilon).\varphi_f.\psi_0+C_0.\rho\rho. \qquad \text{(eq59)}$$

$$\rho_e.Y_\infty=\rho_0.\varphi_f+P_0.\rho_S.\varphi_t \qquad \text{(eq60)}$$

$$\rho_S.\varphi_t=\rho_e.Y_\infty \qquad \text{(eq61)}$$

La liste des variables utilisées dans ce modèle est la suivante :

a : Aire spécifique du solide (m^{-1})

k_f : Coefficient du transfert de masse de l'huile libre au solvant (kg/kg)

k_i : Coefficient du transfert de masse de l'huile stockée (kg/kg)

k_p : Constante d'équilibre entre de l'huile stockée et le solvant (kg/kg)

K_ψ : Constante d'équilibre entre de l'huile libre et le solvant (kg/kg)

P : Concentration de l'huile dans la phase solide exprimée en termes de masse du soluté par unité de masse du solide insoluble (kg/kg)

P_0 : Concentration de l'huile dans la phase solide au début d'extraction

Y_∞ : Rendement asymptotique d'extraction

ϕ_f : La fraction volumique des particules qui occupe la phase huileuse "libre"

ϕ_t : La fraction volumique des particules qui occupe la phase huileuse "stocké"

ρ_e : Masse volumique des particules avant extraction

ρ_0 : Masse volumique de l'huile

ρ_S : Masse volumique du solide non soluble

ψ_0 : Rapport entre le volume de l'huile libre et le volume des particules ouvertes ou accessibles au solvant au début de l'extraction

ψ : Rapport entre le volume de l'huile libre et le volume des particules ouvertes ou accessibles au solvant

V. Conclusion

Après cet aperçu de la modélisation mathématique des processus d'extraction en milieu supercritique, il est évident que les différents modèles publiés diffèrent non seulement du point de vue mathématique mais aussi des mécanismes de transfert de masse qui commandent le procédé d'extraction. Selon Gaspar et al. [71], les modèles décrits dans la littérature se divisent généralement en trois catégories distinctes : les modèles empiriques, les modèles basés principalement sur le bilan de masse dans la phase fluide et les modèles dont le principal objectif est le bilan de masse dans la phase solide. Les modèles empiriques nécessitent une signification physique et il devient donc difficile de prévoir leurs paramètres ajustables. Dans le cas des modèles basés sur le bilan de masse de la phase liquide, la plupart des mécanismes de transfert de masse intra-particules n'ont pas été prises en compte. Le modèle qui se concentre sur les équilibres de phase solide a été considéré comme le plus approprié pour le procédé d'extraction des huiles essentielles, en raison du fait que le transport intra-particulaire est habituellement le facteur limitant pour l'extraction. Nous remarquons, l'existence d'une tendance à attribuer plus d'importance à l'étude des travaux de modélisation de la matrice végétale.

La cinétique de l'extraction des huiles essentielles à partir de matrices végétales dépend non seulement des conditions de fonctionnement du procédé, mais aussi de la morphologie réelle de la plante, c'est à dire la partie de la structure de la matrice où est stockée l'huile essentielle.

Les modèles sont basés sur le bilan massique différentiel, appliqué à la phase liquide et la phase particulaire. En outre, la proposition inclut également la modélisation mathématique de l'extracteur de l'étape de mise sous pression, qui devient plus importante lorsque nous travaillions à l'échelle industrielle.

Comme nous avons pu le constater tout au long de ce chapitre, les propriétés des fluides supercritiques ont été mises à profit dans des secteurs d'applications très diversifiés, et ce, plus particulièrement, dans le secteur de l'extraction des matières végétales où le pouvoir solvant à géométrie variable offre des possibilités en termes de rendement et de sélectivité de l'extraction que ne peuvent apporter les techniques traditionnelles d'extraction à l'aide de solvants organiques. De plus, l'utilisation du dioxyde de carbone, qui ne laisse aucune trace de solvant résiduel dans les extraits, est également un atout très important lors de son utilisation dans l'industrie agroalimentaire et pharmaceutique.

Enfin, l'étude de la modélisation de la cinétique de l'extraction a montré qu'un modèle mathématique n'intégrant pas la texture du matériau et les paramètres opératoires du processus, ne peut avoir qu'une validité limitée, bien qu'il puisse corréler ou ajuster de manière très satisfaisante les résultats expérimentaux.

Partie B

Matériels et méthodes

I. Matériel végétal

Les boutons floraux de myrte (Myrtus communis. L) et les feuilles de Pistacia Lentiscus ont été collectés des arbrisseaux poussant spontanément dans la région de Sejenan (nord tunisien) à une altitude de 20 m et à une longitude de 914° (Institut national de la métrologie (NIM), la Tunisie, 2009). Avant l'extraction, les deux plantes sont séchées à l'air dans l'obscurité ainsi la teneur en humidité est déterminée par dessiccation à l'étuve 100°C, de 100 g de matière fraiche, jusqu'à l'obtention d'un poids constant. Avec cette méthode, nous calculons le pourcentage de la teneur en eau et par la suite, le rendement de l'extraction sera déterminé par rapport à la matière sèche.

II. Méthodes d'extraction

II.1. L'hydrodistillation

L'hydrodistillation est la méthode d'extraction la plus répandue, son principe consiste à exploiter la volatilité des composés des huiles essentielles. L'hydrodistillation consiste à immerger la matière première dans l'eau, l'ensemble est porté à ébullition sous pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage (figure10).

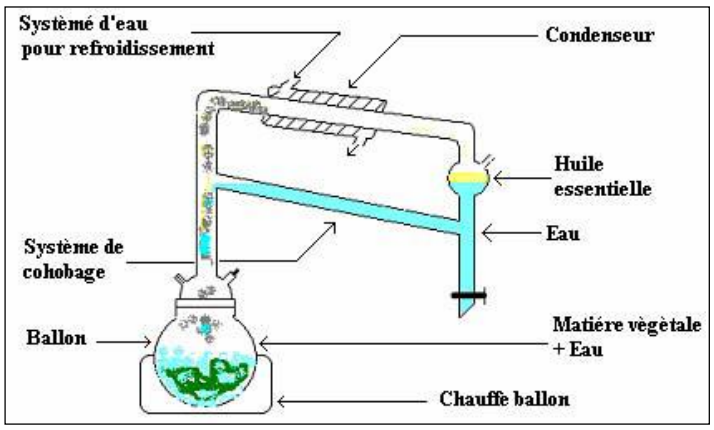


Figure 10. Montage de l'hydrodistillation (appareil de Clevenger)

Le montage est composé de quatre parties principales :

1. Le réacteur, un ballon dans lequel on introduit la matière végétale et l'eau.
2. La colonne, un cylindre en verre placé au-dessus du réacteur qui recueille la phase vapeur.
3. Le réfrigérant dans lequel se condensent les vapeurs.
4. Le vase florentin où vont se séparer la phase organique (huile essentielle) et la phase aqueuse (eau florale).

Ce système peut être équipé d'un recyclage ou cohobage : un principe de siphon renvoie l'eau florale du vase florentin vers le réacteur. Un simple robinet au bas du vase permet de recueillir l'huile essentielle à la fin de la réaction. Le mélange constitué par la matière végétale et l'eau

est porté à ébullition grâce à un chauffe-ballon. La température est limitée par la température d'ébullition de l'eau 100°C. Après l'extraction de l'huile essentielle, il faut ajouter du sulfate de sodium anhydre pour éliminer les traces d'eau, l'huile essentielle obtenue est conservée à l'abri de la lumière et de la température dans des flacons opaques dans le réfrigérateur à une température T= 4°C.

II.2. Extraction par CO_2 Supercritique

II.2.1. Présentation de matériels

L'installation utilisée dans ce travail a été conçue par l'équipe de recherche du laboratoire Réactions et Génie des Procédés (LRGP) à Nancy-France. Il s'agit d'un système d'extraction dynamique où l'extracteur est un cylindre métallique, placé en série avec trois séparateurs. Le schéma d'installation est représenté par la figure11 : l'extracteur est lié à un bain thermostaté ($\pm 0{,}1$°C) qui nous permet de monter en température, et à une pompe à membrane métallique, qui permet d'atteindre la pression de l'extraction (Dosparo Milton Roy-MILROYAL D). Son débit maximum est de 3,2 $kg.h^{-1}$. Un bain froid sert à liquéfier le CO_2 au niveau de la tête de pompe. Le débit de CO_2 est mesuré à l'entrée de la colonne d'extraction à l'aide d'un débitmètre à force de Coriolis (MICROMOTION : $\pm$ 1g) qui permet de connaître la quantité de CO_2 utilisée pendant la durée de l'extraction. La séparation CO_2 / extrait se fait à une température de T=30°C. Ces séparateurs sont aussi les autoclaves qui servent à récupérer les huiles essentielles. Puis le CO_2 est évacué à l'atmosphère.

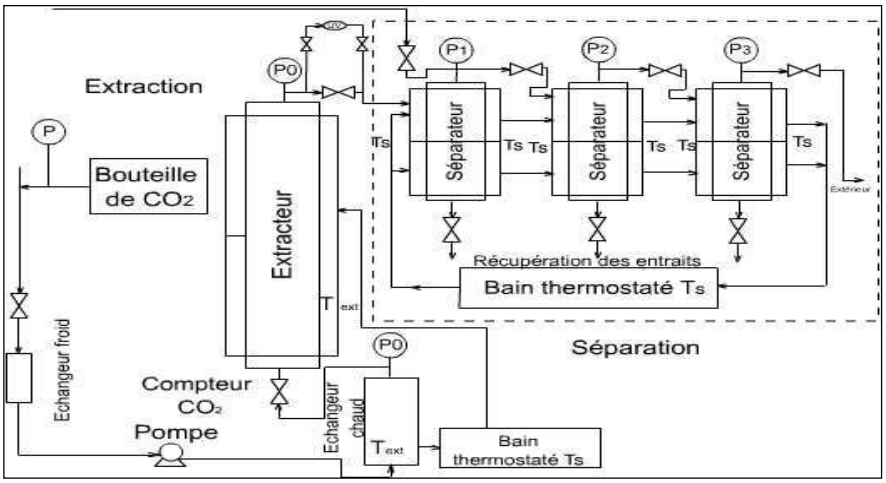


Figure 11. Schéma de l'installation d'extraction dynamique (Conditions limites d'extraction T=80°C, P=250 bars)

Sur cette installation, maintenir le débit de CO_2 constant est très délicat, ce qui oblige à faire très attention au réglage des vannes. C'est surtout le réglage de l'ouverture de la vanne entre le premier et le deuxième séparateur qui est le plus important, en effet, la pression du premier séparateur est proche de la pression de l'extraction.

II.2.1.1. Caractéristiques de l'extracteur

La colonne d'extraction est une enceinte cylindrique, en acier inoxydable contenant un réceptacle dont la fermeture se fait en utilisant un fritté en inox permettant d'assurer que la matière végétale ne puisse pas sortir de l'extracteur à l'état solide. Les caractéristiques de l'extracteur sont représentées dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Caractéristiques de l'extracteur utilisé

Volume (ml)	125
Hauteur (mm)	300
Diamètre interne (mm)	23
P_{max}	250
Matériel	En acier inoxydable

II.2.2.2. Conduite du procédé

Le CO_2 sort de la bouteille à l'état gazeux : à température ambiante et à pression de la bouteille entre 50 et 60 bars. Il est ensuite refroidi à une température entre 4 et 5 °C, à l'aide d'un échangeur froid. Puis le liquide est pompé, réchauffé à l'aide d'un échangeur chaud et dirigé vers l'extracteur, qui est déjà à une température T d'extraction. Le CO_2 est supercritique. Le CO_2 pénètre alors dans l'extracteur. Il s'agit d'un cylindre contenant la matière végétale finement broyée. La température de l'extracteur est maintenue grâce à une double enveloppe.

A la sortie de l'extracteur, l'huile extraite est séparée de CO_2. Pour cela, le $CO_{2\,est}$ ramené dans l'état gazeux par détentes successives. Ces détentes sont effectuées à l'aide des vannes micrométriques situées en aval de chacun des séparateurs. Il est possible de régler grâce à ces vannes la pression de chacun des séparateurs. Une fois que la pression de travail est atteinte, la vanne entre l'extracteur et le premier séparateur est ouverte. Puis il est nécessaire de régler les vannes d'une façon à laisser le CO_2 jusqu'à la sortie, en faisant attention au débit auquel nous nous proposons de travailler. La durée d'extraction dépend des conditions opératoires, mais nous tenons à ce qu'elle soit la plus longue possible, afin d'arriver à extraire le maximum des huiles essentielles.

La chute de pression au niveau des vannes étant importante, les trois détentes s'accompagnent d'un refroidissement important. Un système de cordons chauffants entourant les vannes permet d'atténuer ce phénomène et à éviter ainsi la formation de carboglace qui bouche les tuyaux. Les séparateurs sont de type cyclone, l'huile est récupérée en bas des séparateurs à l'aide des vannes.

II.2.2.3. Remplissage du réceptacle

Nous plaçons dans le réceptacle : la matière végétale, de la laine de verre et des billes de verre.

- La matière végétale : une quantité de matière végétale (30g) est pesée à une précision de ± 0,1mg.
- Les billes de verres : le but de l'utilisation de ces dernières est à accroître la surface de contact entre le CO_2 et la matière végétale, en assurant une contribution homogène de la matière végétale et du CO_2 dans l'autoclave. Le diamètre des billes de verre est de 0,7 mm. La quantité de billes de verre utilisée est de l'ordre de 25 g.
- La laine de verre : l'intérêt de son utilisation est d'empêcher l'entraînement de la matière végétale pendant l'extraction. La quantité utilisée est de l'ordre 2 g. Elle sert à homogénéiser le flux du gaz dans l'extracteur et pour remplir le volume mort.

Le remplissage réceptacle fait que ce dernier se compose de trois parties.

Figure 12. Schéma de l'extracteur en inox

Le réceptacle est fermé à l'aide de frittés en inox servant à empêcher l'entraînement de la matière végétale et à maintenir l'ensemble.

Le remplissage du réceptacle se fait avec beaucoup de précautions, car il faut assurer une distribution homogène de la matière végétale par rapport aux billes de verre dans l'autoclave.

III. Le plan 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 ainsi que les conditions optimales par rapport à une réponse. 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 sur les résultats.

Il existe actuellement un nombre important de plans différents. Chacun, par ses propriétés, permet de résoudre certains problèmes particuliers. L'idée essentielle qui doit mener la démarche expérimentale de l'expérimentateur est que l'on met en œuvre un plan d'expériences afin de répondre à une problématique bien précise. Il faut donc choisir ou construire le plan qui donnera les informations recherchées.

Afin d'obtenir des informations pertinentes, une démarche méthodologique doit être suivie :

- Définir les objectifs et les critères,

- Définir les facteurs étudiés et le domaine expérimental,
- Construire un plan d'expériences,
- Expérimenter,
- Analyser les résultats,
- Conduire éventuellement les essais supplémentaires,
- Valider les résultats,

A l'issue de cette procédure, on pourra conclure sur les résultats donnés par les plans.

III.1. Le domaine d'étude

La méthodologie des plans d'expériences offre le choix entre plusieurs matrices expérimentales ayant chacune des propriétés intrinsèques bien définies. Il est donc nécessaire au préalable, de décider quel type de matrice est le mieux adapté à la problématique de l'expérimentateur. Nous avons choisi d'utiliser deux plans d'expériences qui sont le plan de Doehlert et le plan composite central (CCD) qui nous permettent d'une part, de minimiser le nombre d'expériences pour obtenir une surface de réponse capable de donner les conditions optimales et d'autre part de présenter les résultats expérimentaux sous forme d'une fonction polynomiale de second degré.

L'ensemble des valeurs prises par les différents facteurs sont choisies en considérant les limites d'exploitation du matériel expérimental et compte tenu des données de la littérature sur les conditions d'extraction des plantes en milieu supercritique. Le codage des facteurs nous permet d'éliminer le problème d'unité et de simplifier les calculs par la suite. Le codage des facteurs ainsi que leurs valeurs réelles pour les deux plans utilisés sont regroupés dans les tableaux 7 et 8 ci-dessous :

Tableau 7: Facteurs étudiés et leurs niveaux pour le plan de Doehlert

Paramètre	Code	-1	0	1
Pression d'extraction (bar)	X_1	80	140	200
Masse de la matière végétale (g)	X_2	20	30	40
Température d'extraction (°C)	X_3	40	50	60
Temps de contact (min)	X_4	20	30	40
Débit de CO_2 ($kg.h^{-1}$)	X_5	0,6	0,9	1,2

Tableau 8: Facteurs étudiés et leurs niveaux pour le plan composite central (CCD)

Paramètre	Code	-1	0	1
Masse volumique de CO_2 ($kg.m^{-3}$)	X_1	254,4	555,8	857,2
Taille des particules (µm)	X_2	220	435	650
Débit de CO_2 ($kg.h^{-1}$)	X_3	0,6	0 ,9	1,2
Temps de contact (min)	X_4	20	30	40

La masse volumique de CO_2 à différentes pression et à température 40°C a été calculé avec le logiciel DIAGSIM en utilisant l'équation d'état SRK (Soave-Redlich-Kwong).

III.2. Matrices d'étude des facteurs

L'objectif de notre étude est l'optimisation du rendement de l'extraction des fleurs de myrte en utilisant un plan d'expérience de Doehlert à 5 facteurs et de donner les conditions optimales qui nous offre un rendement maximal.

En utilisant un CCD, une optimisation multicritère du rendement et de l'activité antioxydante (normalisée par rapport à un antioxydant commerciale (BHT), va être réalisée afin de trouver un extrait de *Pistacia* avec une meilleure qualité (un bon pouvoir antioxydant d'extrait) et avec le moindre coût de fabrication à faible et à grande échelle d'équipement.

Les résultats du premier plan seront obtenus par une programmation et traitement individuel en décrivant toutes les étapes de passage de la stratégie des plans d'expérience et dans la deuxième partie, nous utiliserons NEMRODW comme logiciel de calcul commercial. La modélisation à partir de ces deux plans est réalisée avec un modèle polynomial d'ordre 2.

III.2.1. Matrice de Doehlert

L'optimisation d'extrait des fleurs de myrte sera réalisée en utilisant une matrice de Doehlert présentée dans le tableau 9. Dans notre cas, l'étude consiste à étudier l'effet de 5 facteurs ce qui nous donne un ensemble de 30 expériences à réaliser pour satisfaire la théorie du plan de Doehlert et 4 répétitions au centre pour étudier l'erreur expérimentale, le nombre d'expériences total à effectuer est de 34.

Tableau 9 : La matrice d'expériences (en variables codées) du plan de Doehlert à cinq facteurs

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
1	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
2	-1.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
3	0.5000	0.8660	0.0000	0.0000	0.0000
4	-0.5000	-0.8660	0.0000	0.0000	0.0000
5	0.5000	-0.8660	0.0000	0.0000	0.0000
6	-0.5000	0.8660	0.0000	0.0000	0.0000
7	0.5000	0.2887	0.8165	0.0000	0.0000
8	-0.5000	-0.2887	-0.8165	0.0000	0.0000
9	0.5000	-0.2887	-0.8165	0.0000	0.0000
10	0.0000	0.5774	-0.8165	0.0000	0.0000
11	-0.5000	0.2887	0.8165	0.0000	0.0000
12	0.0000	-0.5774	0.8165	0.0000	0.0000
13	0.5000	0.2887	0.2041	0.7906	0.0000
14	-0.5000	-0.2887	-0.2041	-0.7906	0.0000
15	0.5000	-0.2887	-0.2041	-0.7906	0.0000
16	0.0000	0.5774	-0.2041	-0.7906	0.0000
17	0.0000	0.0000	0.6124	-0.7906	0.0000
18	-0.5000	0.2887	0.2041	0.7906	0.0000
19	0.0000	-0.5774	0.2041	0.7906	0.0000
20	0.0000	0.0000	-0.6124	0.7906	0.0000

	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5
21	0.5000	0.2887	0.2041	0.1581	0.7746
22	-0.5000	-0.2887	-0.2041	-0.1581	-0.7746
23	0.5000	-0.2887	-0.2041	-0.1581	-0.7746
24	0.0000	0.5774	-0.2041	-0.1581	-0.7746
25	0.0000	0.0000	0.6124	-0.1581	-0.7746
26	0.0000	0.0000	0.0000	0.6325	-0.7746
27	-0.5000	0.2887	0.2041	0.1581	0.7746
28	0.0000	-0.5774	0.2041	0.1581	0.7746
29	0.0000	0.0000	-0.6124	0.1581	0.7746
30	0.0000	0.0000	0.0000	-0.6325	0.7746
31	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
32	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
33	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
34	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

Nous remarquons bien que dans ce plan, les facteurs ne prennent pas le même nombre de niveau, le premier facteur est à 5 niveaux alors que le 2ème est à 8 niveaux, les autres facteurs ont aussi un nombre de niveaux différents.

Dans ce présent travail, nous essayerons de bien analyser ce plan et de l'améliorer en se basant sur des règles mathématiques et en utilisant des algorithmes d'échange (DETMAX) (voir annexe I) afin de rendre ce plan plus efficace et plus fiable.

III.2.2. Matrice de CCD

Dans la partie de l'optimisation multicritères (rendement et activité antioxydante) nous utiliserons un plan CCD à quatre facteurs qui ont été cités dans l'étude bibliographique.

L'utilisation de ce plan nous donne une matrice codée de 29 expériences, dont les 5 dernières sont des répétitions au centre. Les expériences réalisées sont regroupées dans le tableau 10 ci-dessous.

Tableau 10: La matrice d'expériences (en variables codées) du plan CCD à quatre facteurs

	X_1	X_2	X_3	X_4
1	-1.0000	-1.0000	-1.0000	-1.0000
2	1.0000	-1.0000	-1.0000	-1.0000
3	-1.0000	1.0000	-1.0000	-1.0000
4	1.0000	1.0000	-1.0000	-1.0000
5	-1.0000	-1.0000	1.0000	-1.0000
6	1.0000	-1.0000	1.0000	-1.0000
7	-1.0000	1.0000	1.0000	-1.0000
8	1.0000	1.0000	1.0000	-1.0000
9	-1.0000	-1.0000	-1.0000	1.0000
10	1.0000	-1.0000	-1.0000	1.0000

	X_1	X_2	X_3	X_4
11	-1.0000	1.0000	-1.0000	1.0000
12	1.0000	1.0000	-1.0000	1.0000
13	-1.0000	-1.0000	1.0000	1.0000
14	1.0000	-1.0000	1.0000	1.0000
15	-1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
16	1.0000	1.0000	1.0000	1.0000
17	-1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
18	1.0000	0.0000	0.0000	0.0000
19	0.0000	-1.0000	0.0000	0.0000
20	0.0000	1.0000	0.0000	0.0000
21	0.0000	0.0000	-1.0000	0.0000
22	0.0000	0.0000	1.0000	0.0000
23	0.0000	0.0000	0.0000	-1.0000
24	0.0000	0.0000	0.0000	1.0000
25	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
26	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
27	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
28	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000
29	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000

III.3. Le modèle mathématique

Lorsqu'on utilise un modèle du deuxième degré, la réponse Y est estimée à l'aide d'un polynôme de degré 2.

Plus le degré du polynôme est élevé, plus nous avons théoriquement de chance d'avoir un modèle proche de la réalité. Mais les polynômes de degré élevé nécessitent beaucoup de points expérimentaux et leur validité est très douteuse en dehors du domaine expérimental.

C'est pour cette raison que nous nous contentons dans cette étude de polynôme de second degré en fonction des facteurs donc il faudra estimer 21 coefficients pour le cas du plan de Doehlert et 15 coefficients pour le cas du plan CCD.

Le nombre d'inconnues d'un modèle de second degré est déterminé par la formule suivante :

$$p = \frac{(k+2)!}{k!2!} = \frac{(k+2)(k+1)}{2} \qquad \text{(eq60)}$$

L'équation générale utilisée pour représenter la variation des paramètres pour chaque réponse est la suivante :

$$\hat{Y} = a_0 + \sum a_i x_i + \sum a_{ij} x_i x_j + \sum a_{ii} x_{ii}^2 + \varepsilon \qquad \text{(eq61)}$$

Avec

$\hat{Y}$: la réponse expérimentale,

a_0 : la réponse au centre et indépendante des facteurs,

ai : le coefficient de terme linéaire,

a_{ii} : le coefficient quadratique,

a_{ij} : le coefficient correspondant à l'interaction entre le facteur i et le facteur j.

ε : l'erreur globale (erreur de manque d'ajustement + erreur expérimentale).

Pour calculer les coefficients du modèle, nous avons à résoudre le système matriciel suivant pour n expériences et p paramètres :

$$Y = X \hat{a} \qquad \text{(eq62)}$$

La résolution de ce système est obtenue par la méthode du maximum de vraisemblance de Fisher ou minium de variance :

$$\hat{a} = ({}^tX\, X)^{-1}.\ {}^tX.\ Y \qquad \text{(eq63)}$$

Avec

X : la matrice des effets du modèle de dimension (n, p) où n le nombre d'expériences et p est le nombre des paramètres du modèle,

${}^tX$: est la matrice transposée de X de dimension (p, n),

Y : est le vecteur des réponses mesurées de dimension (n, 1)

â : le vecteur des coefficients estimés de dimension (p, 1).

IV. Analyse chimique des huiles essentielles et des extraits

IV.1. Conditions analytiques des composés volatils

L'analyse des composés volatils des huiles essentielles et des extraits des différentes plantes est réalisée à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse de marque Young Lin Autochro série 6000 muni d'un détecteur à ionisation de flamme. La colonne utilisée de marque Agilent présente les caractéristiques suivantes :

- Phase stationnaire apolaire : de type DB5,
- Longueur : 30 m
- Diamètre interne : 0,32 mm
- Epaisseur du film : 0,25 µm
- Température maximale : 350 °C

Figure 13. Chromatographe Young Lin

L'appareil est piloté par un micro-ordinateur exploitant Young Lin-3000 Chromatographe avec système d'exploitation des données, permettant de faire varier les paramètres physiques des analyses (température, débit, allumage de la flamme ….) menées dans les conditions suivantes:

- Gaz vecteur : azote (N_2) (débit colonne : 3 ml/min)
- Rapport de split : 10 :1
- Température de l'injecteur : 250 °C
- Température du détecteur : 300 °C
- Programmation de température du four (tableau 11) :

Tableau 11 : Programme de température de GC-FID

Etape	Température initiale (°C)	Rate (°C.min^{-1})	Température finale (°C)
1	50	3	270
2	270	10	300

IV.2.1. Identification des composés volatils

L'identification des composés volatils a été réalisée par trois méthodes qui sont : la Co-chromatographie, le couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse et le calcul de l'indice de Kovàts.

IV.2.1.1. Co-chromatographie

Il s'agit d'analyser des témoins des composés volatils par CPG et de comparer leurs temps de rétention (T_R) à ceux des composés de l'échantillon analysé, dans les mêmes conditions opératoires.

IV.2.1.2. Couplage chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse

Le principe du couplage CPG/SM repose sur la fragmentation des composés suite à leur bombardement par un flux d'électrons et leur exposition à des champs électriques. Les ions libérés seront classés selon leur rapport masse/charge.

Le spectromètre de masse (SM) est de type Varian Star 3400 Cx chromatograph (Les Ulis, France)

- Colonne HP5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm)

- Gaz vecteur : Hélium
- Débit : 1,2 ml/min
- Split ration : 60 :1
- Pression 11,7 Psi
- Température de l'injecteur : 250°C
- Température du détecteur : 280°C
- Température de la source : 175°C
- Température de l'interface : 280°C
- Programme de température du four :
  - ✓ Isotherme à 80°C pendant 1,2 min
  - ✓ De 80 à 175°C à raison de 30°C / min
  - ✓ 175 à 225°C à raison de 45°C /min

IV.2.1.3. Indice de Kovàts

L'indice de Kovàts [96] est un paramètre caractéristique de chaque composé organique analysé par CPG. Le principe de cette méthode consiste à injecter, dans les mêmes conditions analytiques, une série d'hydrocarbures aliphatiques à nombre croissant d'atomes de carbone. Le calcul des indices de rétention (IK) a été effectué comme suit :

$$IK_A = 100.N + \frac{\left(T_R(A) - T_R(N)\right)}{\left(T_R(N+1) - T_R(N)\right)} \quad \text{(eq64)}$$

Avec

A : Composé à identifier,

N : Nombre d'atomes de carbone de l'hydrocarbure aliphatique injecté avec l'échantillon dont le temps de rétention est le plus proche du temps de rétention du composé A

$T_R(A)$ **:** Temps de rétention du composé A

$T_R(N)$ **:** Temps de rétention de l'hydrocarbure injecté avec l'échantillon qui est élué juste avant le composé A

$T_R(N+1)$ **:** Temps de rétention de l'hydrocarbure injecté avec l'échantillon et qui est élué juste après le composé A

IV.2.2. Quantification

Après l'identification des composés par GC-MS, l'analyse quantitative des composés majoritaires telle que l'α-pinène, le 1,8-cinéole, le limonène, le linalol et l'α-terpinéol …est effectuée par GC-FID en utilisant la méthode des gammes étalons.

Pour cela une masse de la solution commerciale (ACROS) de l'étalon est pesée avec une balance de précision, puis dilué dans l'éthanol absolu (Sigma Aldrich, C_2H_6O, pureté = 99,8%, Masse molaire =46,07) jusqu'à obtention de la concentration désirée.

Après la préparation d'une gamme d'étalon ayant les concentrations suivantes : 1mg/ml, 2mg/ml, 4mg/ml, 6mg/ml, et 8mg/ml) et puisque l'injection est manuelle, chaque concentration est injectée trois fois ainsi la courbe d'étalonnage n'est tracée que si le test d'homogénéité des variances (Test de Cochran) est réalisé confirmant l'absence des points aberrants pour α=1% et l'absence des points suspects pour α=5%.

Les résultats ne sont fiables que si les courbes d'étalonnages ont un coefficient de régression linéaire R^2 égal à 0,99. (Voir Annexe 3)

V. Activité antioxydante

Actuellement, une grande importance est donnée aux antioxydants naturels à cause de leurs propriétés thérapeutiques. Sachant que les antioxydants synthétiques comme le BHT (butylhydroxytoluène) et le BHA (butylhydroxyanisol) sont cancérigènes, plusieurs recherches scientifiques dans diverses spécialités ont été développées pour l'extraction, l'identification et la quantification des antioxydants naturelles à partir de plusieurs substances à savoir les plantes aromatiques médicinales et les produits agroalimentaires pour les utiliser comme substituant des antioxydants synthétiques.

L'activité antioxydante d'un composé correspond à sa capacité à résister à l'oxydation.

Les antioxydants les plus puissants sont : le β-carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés phénoliques.

Les antioxydants naturels que soit d'origine naturelle ou synthétique, possèdent dans la plupart des cas dans leurs structures des groupes hydroxyphénoliques jouant un rôle important dans la réaction de piégeage des radicaux libres tels que les radicaux hydroxyles ($OH^{\cdot}$). Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer l'activité antioxydante par piégeage de radicaux mais de point de vue méthodologique le test au radical libre $DPPH^{\cdot}$ est recommandé pour des composés contenant les groupements SH^-, NH^- et OH^- [97].

Il a l'avantage de s'effectuer à température ambiante ce qui garantit la stabilité des molécules thermolabiles.

Dans ce cadre, ce test est utilisé pour l'évaluation de l'activité antioxydante de nos échantillons pour chaque méthode d'extraction.

V.1. Principe de la méthode

Le composé chimique 2,2-diphenyl-1-picryl- hydrazile fut l'un des premiers radicaux libres utilisés pour étudier la relation structure-activité antioxydante des composés phénoliques [97].

Il possède un électron non apparié sur un atome du pont d'azote et à température ambiante il reste relativement stable.

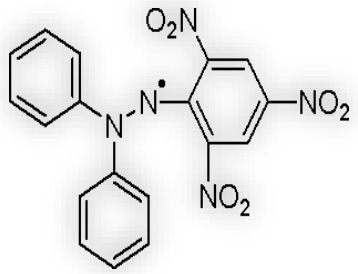


Figure 14. Structure chimique du radical DPPH˙

L'activité anti radicalaire est mesurée par la dégradation du DPPH, qui présente une intense coloration violette en l'absence de l'antioxydant. La couche électronique de ce radical est saturée en contact d'antioxydants, ce qui explique la disparition de sa coloration. Cette décoloration reflète le pouvoir de l'extrait de la plante à piéger ce radical.

Les antioxydants assurent le piégeage des radicaux libres par l'une de ces méthodes :

- La libération d'un atome d'hydrogène du groupement hydroxyle (cinétique rapide de certains acides et dérivées phénoliques).
- La libération d'un électron (cinétique lente des dérivées glycolysées et des anthocyanes).

Pour les composées phénoliques, c'est le premier mécanisme qui se déroule et donne la formation d'une molécule stable DPPHH :

DPPH•+ ΦOH → DPPHH + ΦO•

Des autres voies sont également possibles et permettent l'obtention des structures plus au moins stables :

ΦO•+ ΦO• → ΦO-OΦ

DPPH•+ ΦO•→ ΦO-DPPH

ΦO• (semi-quinone) $^{-H\bullet}$ → Φ=O (quinone)

V.2. Préparation des échantillons et protocole utilisé

Pour les études des activités antioxydantes, des solutions d'extraits méthanoliques et d'huiles essentielles de fleurs, différentes concentrations croissantes sont préparées. Pour l'extrait des solutions de concentration 5, 10, 20, 40, 60,80 et 100 µg/ml sont préparées dans le méthanol.

Pour HE des solutions de concentration 1, 3, 5 et 7 mg/ml sont préparées dans le méthanol.

L'activité antioxydante est évaluée en utilisant le DPPH selon la méthode de Blois [98] avec quelques modifications (on a modifié les volumes utilisés pour avoir des valeurs d'absorbance

positives). Pour cela, 1,5 millilitre de chaque concentration est mélangé avec 1,5 millilitre de solution méthanolique de DPPH de concentration 0,2 mM. Après une incubation de 30 min à l'obscurité à 25°C, l'absorbance de chaque mélange est mesurée au moyen d'un spectrophotomètre UV-visible (Beckman Coulter UV/vis spectrophotomètre model DU-520), la longueur d'onde étant fixée à 517 nm celle du maximum d'absorbance de DPPH.

La même procédure a été également appliquée au blanc analytique (solution contenant toutes les réactifs, et ne contenant pas l'analyte). Pour chaque concentration, le test est répété 3 fois,

L'activité anti radicalaire est estimée en pourcentage d'inhibition grâce à la formule suivante :

$$\%inhibition = \frac{A_0 - A_e}{A_0} * 100 \qquad \text{(eq65)}$$

Avec

A_0 : Absorbance du témoin

A_e : Absorbance de l'échantillon

VI. Etude de la stabilité oxydative d'huile de beurre additionnée des extraits de Pistacia et de Myrte

Aux cours de ce travail, nous avons procédé à une étude comparative de l'effet des ajouts des antioxydants naturels (extraits de myrte et de *Pistacia*, β-carotène) sur la stabilité oxydative de la matière grasse laitière (huile de beurre). Les échantillons, entreposés à une température de 44°C, font l'objet d'un suivi régulier de leur degré de rancissement pendant une période de 24 jours.

Les échantillons font aussi l'objet, d'un test rancimat après 4 moins d'entreposage réfrigéré.

Un test de cuisson est prévu dans une dernière partie de cette étude, afin d'élucider le comportement des différents échantillons une fois inclus dans une matrice alimentaire.

VI.1. Préparation des échantillons

Pour la préparation des échantillons nous avons procédé d'une manière similaire à celle adoptée par Karabulut [98]. Le beurre a été fondu dans un bain marie à 60°C, additionné d'une pincée de bicarbonate de sodium anhydre et mis sous agitation pendant quelques secondes. La phase lipidique est séparée du sérum par filtration sur papier Watlman. La filtration a lieu dans une étuve à 60°C.

Cinq séries d'échantillons : A, B, C, D et E préparées à partir d'un même échantillon d'huile de beurre ont été utilisés au cours de cette étude. Chaque série comporte trois échantillons du beurre additionnés respectivement de 200, 300 et 500 ppm de l'antioxydant en question. Le tableau ci-joint, résume le mode de préparation de ces échantillons.

Tableau 12 : Préparation des différents échantillons

Séries	Concentration (ppm)	Nature de l'antioxydant ajoutée dans le beurre.
A	A_1 (200ppm)	100 ml beurre +200 ppm d'huile extraite des fleurs Myrtes par hydrodistillation.
	A_2 (300ppm)	100 ml beurre+300 ppm d'huile extraite des fleurs de Myrte par hydrodistillation.
	A_3 (500ppm)	100 ml beurre + 500 ppm d'huile extraite des fleurs de Myrte par hydrodistillation.
B	B_1 (200ppm)	100 ml beurre+200 ppm d'huile extraite des feuilles de *Pistacia* issue de l'extraction par hydrodistillation.
	B_2 (300ppm)	100 ml beurre+300 ppm d'huile extraite des feuilles *Pistacia* issue d'extraction par hydrodistillation.
	B_3 (500ppm)	100 ml beurre+500 ppm d'huile extraite des feuilles de *Pistacia* issue d'extraction par hydrodistillation.
C	C_1 (200ppm)	100 ml beurre+200 ppm d'extrait des fleurs de Myrte obtenu par CO_2 supercritique
	C_2 (300ppm)	100 ml beurre+300 ppm d'extrait des fleurs de Myrte obtenu par CO_2 supercritique
	C_3 (500ppm)	100 ml beurre+500 ppm d'd'extrait des fleurs de Myrte obtenu par CO_2 supercritique
D	D_1 (200ppm)	100 ml beurre+200 ppm de β-carotène
	D_2 (300ppm)	100 ml beurre+300 ppm de β-carotène
	D_3 (500ppm)	100 ml beurre+ 500 ppm de β-carotène
E	E_1 (200ppm)	100 ml beurre+200 ppm d'extrait des feuilles de *Pistacia* obtenu par CO_2 supercritique.
	E_2 (300ppm)	100 ml beurre+300 ppm d'extrait des feuilles de *Pistacia* obtenu par CO_2 supercritique.
	E_3 (500ppm)	100 ml beurre+500 ppm d'extrait des feuilles de *Pistacia* obtenu par CO_2 supercritique.

VI.2. Détermination du degré d'oxydation

VI.2.1. Indice de peroxyde

L'indice de peroxyde d'un corps gras représente le nombre de microgramme d'oxygène actif présent dans 1g de matière grasse. L'oxygène actif est l'oxygène existant sous forme d'hydro peroxyde ou d'époxyde dans une matière grasse. Il est déterminé conformément à la norme Iso 3960 Juin 2010 dont le principe est le suivant :

Une prise d'essai est mise en solution dans un mélange d'acide acétique et de chloroforme, traitée ensuite par une solution d'iodure de potassium. On titre l'iode libéré par une solution de thiosulfate de sodium en présence d'empois d'amidon.

En présence de l'oxygène de l'air, les acides gras insaturés s'oxydent en donnant les peroxydes selon la réaction suivante :

Figure 15. Schéma réactionnel de l'oxydation d'un acide insaturé

Sur une molécule de peroxyde, une molécule d'oxygène est fixée.

Sur les deux atomes d'oxygène fixés, un seul est actif et est capable d'oxyder les iodures selon la réaction suivante :

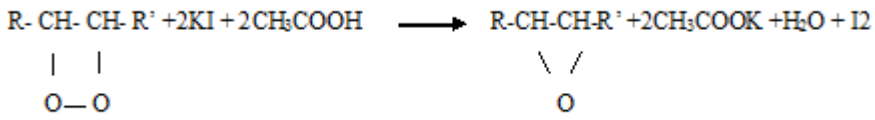


Figure 16. Schéma réactionnel de l'oxydation d'un acide carboxylique en présence d'un peroxyde

VI.2.2. Mode opératoire :

On pèse environ 1 g de beurre dans un erlenmeyer de 250ml auquel on ajoute 10ml de chloroforme et 15ml d'acide acétique et immédiatement après 1 ml d'une solution aqueuse saturée d'iodure de potassium. Nous agitons pendant une minute et nous mettons à l'obscurité pendant 5min., nous ajoutons 75 ml d'eau distillée en agitant vigoureusement et quelques gouttes d'empois d'amidon (Indicateur). Le dosage se fait alors avec une solution de thiosulfate de sodium 0, 01N. Un essai à blanc sans le corps gras est effectué parallèlement au premier essai. Le calcul de l'indice de peroxyde est fait à partir de l'équation ci-dessous :

$$IP(\mu g/g) = \frac{(V - V_0).N}{P}.8000 \quad \text{(eq66)}$$

Avec

8000=0.5*16 (Mass molaire de O_2) *10^{-3}(volume exprimé en ml) *10^6 (conversion de g en µg) ; (V-V_0) *N = n ($S2O_3^{2-}$) à l'équilibre=2*n I_2 formé=2*n peroxyde=2*O_2 fixé

µg/g= Masse de O_2 fixée

V0 : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour l'essai à blanc en ml ;

V : Volume de la solution de thiosulfate de sodium utilisé pour la prise d'essai en ml ;

N : Normalité de la solution de thiosulfate de sodium ;

P : Masse de la prise d'essai en gramme.

VI.3. Test d'oxydation accéléré ou détermination de la stabilité à l'oxydation ou encore test au Rancimat (892 Professional, Metrohm) [100]

VI.3.1. Principe

Le principe du test consiste à vieillir prématurément les matières grasses par décomposition thermique à une température spécifiée. Cette opération se fait à une température comprise entre 100 et 120 °C, sous un bullage intensif d'air (à 98°C dans les conditions opératoires de notre travail). Les acides organiques, produits de dégradation de cette oxydation poussée, sont entraînés par un courant d'air et recueillis dans une fiole contenant de l'eau déminéralisée ou distillée, dans laquelle est immergée une électrode de mesure de la conductivité. Le temps est déterminé par conductimétrie et correspond au TIR (Temps d'Induction au test Rancimat). La fin de ce test est indiquée lorsque la conductivité se met à augmenter rapidement. Cette augmentation accélérée est provoquée par l'accumulation d'acides gras volatils produits au cours de l'oxydation.

VI. 3.2. Mode opératoire

Fixer la pompe à membrane pour gaz et régler le débit à 10 l/h exactement. Puis arrêter à nouveau la pompe. Amener le bloc chauffant à la température voulue (100°C en général) à l'aide du thyristor et du thermomètre à contact. La température doit être maintenue constante à ± 0,01 °C près pendant la durée de l'essai. Remplir les cellules de mesure de 50 ml d'eau distillée ou déminéralisée à l'aide d'une pipette de mesure. Vérifier les électrodes et régler leurs signaux à l'aide du potentiomètre d'étalonnage de façon à ce qu'elles soient sur l'axe zéro du papier de l'enregistreur. A l'aide d'une pipette peser, à 0,01 g près, 3 g de l'échantillon et les introduire dans le flacon d'oxydation à l'air.

Mettre en marche la pompe à membrane pour gaz et régler à nouveau le débit sur 10 l/h exactement. Relier le tube d'arrivée et le tube de sortie d'air aux flacons d'oxydation à l'air et aux cellules de mesure à l'aide des tubes de raccordement. Introduire le flacon d'oxydation à l'air muni de son bouchon hermétique dans le trou percé à cet effet dans le bloc chauffant ou dans le bain chauffant, qui doivent être tous deux à la température requise.

Arrêter les mesures au moment où le signal a atteint 100% de l'échelle de l'enregistreur (généralement 200 µS/cm).

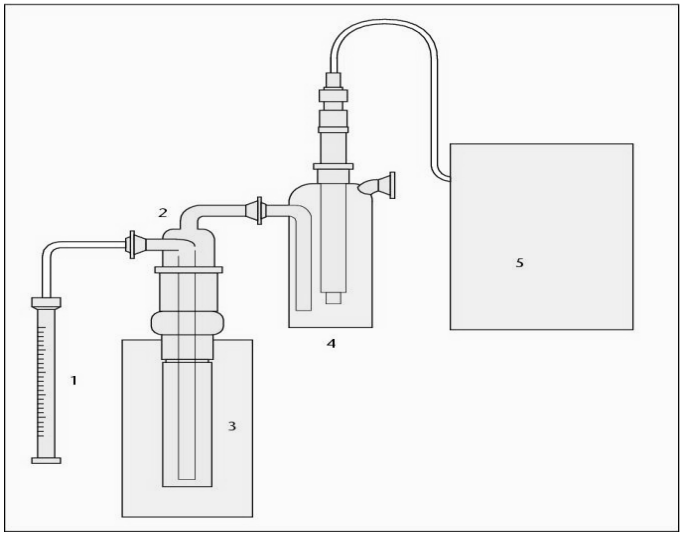


Figure 17. Vue schématique du dispositif d'un test Rancimat

1) débitmètre (flux d'air 20 L/h) ;

2) fiole contenant l'échantillon d'huile ou de graisse ;

3) bloc de chauffage en aluminium ;

4) récipient contenant l'eau distillée et l'électrode ;

5) amplificateur du signal de conductivité et enregistreur 6 voies.

VII. L'huile essentielle de myrte, conservateur des produits de la pêche (filet de sardine)

VII.1. Introduction

Dans l'objectif de souligner le potentiel d'exploitation de l'huile essentielle de myrte comme conservateur alimentaire naturel, on a étudié l'effet d'un enrobage à base d'amidon additionné d'huile essentielle de myrte obtenu par hydrodistillation sur l'oxydation des lipides et la dégradation des protéines des filets de sardine congelés. L'effet de l'enrobage a été comparé à celui de l'immersion dans des solutions aqueuses de vitamine C et d'extrait éthanolique de raisin.

VII.2. Préparation des échantillons

Des poissons frais de masse moyenne de 110 g sont achetés sur le quai de Bizerte, conservés sous glace durant une nuit, éviscérés et lavés sous un jet d'eau froide. Pour les lots d'échantillons additionnés de la vitamine C et des extraits phénoliques, les filets sont émergés pendant 30 minutes dans des solutions aqueuses de vitamine C et d'extrait phénolique du vin (vin 100 fois concentré après passage dans un évaporateur rotatif). Les filets sont égouttés et conditionné immédiatement dans des sacs plastiques.

Pour les échantillons enrobés par le film à base de gélatine, les filets sont immergés dans la solution d'enrobage pendant 2 minutes, égouttés, séchés à 30°C et placés dans des sacs plastiques alimentaire. Les différents lots sont placés dans le réfrigérateur (4°C). Des prélèvements sont effectués chaque jour durant une semaine. Les paramètres de suivi de l'altération sont : l'indice de peroxyde des lipides du poisson, la valeur de l'ABVT (Azote Basique Volatil Total), l'indice de rétention d'eau.

Des séances, d'analyse sensorielle ont été effectuées après les 7 jours de stockage. Un lot d'échantillon témoin est préparé dans les mêmes conditions.

VII.3. Préparation de la solution d'enrobage

Pour la préparation de la solution d'enrobage nous avons adopté la même procédure que celle adoptée par Floch et al. [101], avec quelques modifications (on a modifié les concentrations utilisées pour donner suite à des essais préliminaires) :

Un mélange d'eau distillée et de gélatine du poisson est préparé en ajoutant progressivement la poudre de gélatine à l'eau jusqu'à obtenir une concentration finale de 3% (m/v). Le mélange est d'abord agité à la température ambiante pendant 30 minutes, puis il est porté à 60°C pendant 15 minutes. Après solubilisation complète, l'huile de maïs additionné d'huile essentielle de myrte, est ajouté au mélange à raison de 25% (m/m) de la totalité des protéines. Afin de stabiliser l'émulsion, le tween-20 est aussi utilisé à une concentration de 15% (m/m) à base de son contenu en huile essentielle. Le mélange obtenu est homogénéisé à une vitesse de 11 000 rpm pendant 2 minutes utilisant un Ultra-turax (mélangeur à haut cisaillement : Model T25 basic). Avant d'immerger les filets du poisson dans la solution ainsi préparée, le mélange est laissé reposer à la température ambiante pendant 5 min afin d'éliminer les bulles d'air qui se sont formées au cours de l'agitation.

VII.3. Paramètres d'évaluation de degré altération de la chair du poisson

VII.3.1. Détermination de l'indice de peroxyde Ip

VII.3.1.1. Principe

Le dosage des hydro-peroxydes a été effectué selon la méthode de Stone [102]. En milieu acide, les hydro-peroxydes extraits des échantillons par le méthanol, oxydent le Fe^{2+} (présent dans le réactif) en Fe^{3+}. Ce dernier forme un complexe coloré avec le xylénol orange qui possède un maximum d'absorption à 560 nm. Les hydro-peroxydes présents dans l'extrait sont alors quantifiés par spectrophotométrie et par référence à une courbe étalon.

VII.3.1.2. Procédure

Un volume d'extrait lipidique, contenant une masse de lipides allant de 50 à 100 mg est évaporé sous courant d'azote, repris dans 9,9 ml de chloroforme/méthanol (7/3) et homogénéisé pendant 10 mn dans un bain ultrasonique. Après l'ajout de 50 µl de xylénol orange en solution et 50 µl de chlorure de fer (II), le mélange a été homogénéisé de nouveau. Après exactement 5 mn, l'absorbance de l'échantillon est lue à 560 nm par le spectrophotomètre BIORAD. La préparation de la gamme étalon est réalisée par le chlorure de fer (III) 10µg/ml.

$$IP=\frac{[(Ae-AB)\times Pi]}{(mi\times 55{,}84\times 2)} \qquad (eq69)$$

Ae : absorbance de l'échantillon

AB : absorbance du blanc

pi : l'inverse de la pente de la gamme étalon

mi: masse de l'extrait lipidique (g); 55,84 : masse moléculaire du fer (µg/µmol)

L'indice de peroxyde est exprimé en meq oxygène actif/kg d'huile

VII.3.2. Détermination de l'Azote Basique Volatil Total

L'ABVT (azote basique volatil total) est un des critères utilisés pour évaluer l'altération des produits de la mer. Il résulte principalement de la dégradation des protéines par l'action des bactéries ou d'enzymes présents dans la chair des poissons.

VII.3.2.1. Principe de la méthode utilisée

Les protéines sont extraites par l'acide perchlorique. Les bases volatiles sont séparées par la suite par distillation, et l'extrait obtenu est finalement neutraliser par l'acide chlorhydrique.

VII.3.2.2. Mode opératoire

VII.3.2.2.1. Préparation de l'échantillon

Broyer soigneusement l'échantillon à analyser. Prélever 10 g de l'échantillon broyé et placer le prélèvement dans un récipient adapté. La pâte obtenue est mélangée et homogénéisée pendant 2 min avec 90 ml d'une solution d'acide perchlorique avant d'être filtrée. L'extrait ainsi obtenu peut être conservé pendant au moins sept jours à une température comprise entre + 2 et + 6 °C environ.

VII.3.2.2.2. Distillation à la vapeur d'eau

Mettre 50,0 ml de l'extrait obtenu dans un appareil de distillation à la vapeur. Quelques gouttes de phénolphtaléine sont ajoutées au distillat afin de vérifier l'alcalinité du distillat. Après adjonction de quelques gouttes d'agent anti-moussant à base de silicone, ajouter à l'extrait 6,5 ml de solution de soude caustique et commencer immédiatement la distillation à la vapeur.

Régler le dispositif de distillation de façon à obtenir environ 100 ml de distillat en 10 minutes. Immerger le tube d'écoulement du distillat dans une fiole contenant 100 ml d'une solution d'acide borique (assurer la fixation des bases volatiles) à laquelle ont été ajoutées 3 à 5 gouttes d'indicateur. Arrêter la distillation après exactement 10 minutes. Enlever le tube d'écoulement du réceptacle et le rincer à l'eau. Les bases volatiles contenues dans la solution du réceptacle sont déterminées par titrage avec l'acide chlorhydrique. Le pH du point limite devrait être de 5,0 ± 0,1.

VII.3.2.2.3. Titrage

Les analyses doivent être effectuées en double. La méthode appliquée est correcte si la différence entre les deux analyses ne dépasse pas 2 mg/100 g.

VIII.3.2.2.4. Essai à blanc

Effectuer un essai à blanc à la place de l'extrait, utiliser 50,0 ml de solution d'acide perchlorique.

VII.3.2.2.5. Calcul de la concentration en ABVT

Calculer la concentration en ABVT par titrage de la solution du réceptacle avec de l'acide chlorhydrique en appliquant l'équation suivante : [102]

$$ABVT\ (\text{en mg/100g}) = \frac{(V_1 - V_0) * 0{,}14 * 2 * 100}{M} \qquad \text{(eq70)}$$

V_1 = volume d'acide chlorhydrique à 0,01 mol/l en ml pour l'échantillon

V_0 = volume d'acide chlorhydrique à 0,01 mol/l en ml pour le témoin

M = masse de l'échantillon en g.

VII.3.3. Détermination de la capacité de rétention d'eau

Pour la détermination de l'aptitude de la chair de poisson à retenir l'eau, 10 g de la chair de poisson hachée, est mélangée avec 10 ml d'eau distillée. Après un temps de repos de 30 min à basse température, le mélange est centrifugé (3000g, 10 min, 4°C). Le volume d'eau récupéré est mesuré à l'aide d'une éprouvette.

VII.4. Analyses sensorielles

L'analyse sensorielle [103] a été réalisée sur les filets par un jury d'analyses sensorielles (employés à la société TRAD, et étudiants à l'ISET de Bizerte). Le jury est composé de 16 individus sélectionnés pour son intérêt, sa disponibilité et ses capacités à discriminer ou à mémoriser les intensités sensorielles. Chaque membre est volontaire et participe à des sessions d'entraînement afin de développer leurs performances sensorielles et leurs connaissances des produits de la mer.

Les séances d'évaluation se déroulent dans une salle climatisée, dédiée aux analyses sensorielles, divisée en dix cabines individuelles éclairées par une lumière blanche standard (TO : 6500K) et équipées d'un micro-ordinateur permettant une acquisition automatique des données. Ces conditions sont nécessaires à une bonne concentration et évitent la communication entre les membres du jury et la perturbation par des facteurs externes **(AFNOR V-09-105, 1995).**

Les tests sensoriels ont été réalisés sur les filets marinés et les filets enrobés. Cependant vu que les deux types d'échantillons ont des aspects très différents avant cuisson, on s'est contenté pour les échantillons enrobés d'une évaluation après cuisson.

Les échantillons sont cuits à la vapeur durant 3 min. les échantillons sont présentés couverts du papier aluminium. Ils sont codés de manière anonyme par un nombre à trois chiffres. Les échantillons, présentés simultanément sont notés sur une échelle structurée.

Le test choisi est un test de classement, il permet de caractériser et de discriminer les filets au niveau de l'aspect de la chair, de l'odeur, de la flaveur et de la texture. Les critères d'odeur sont immédiatement jugés après avoir ouvert le récipient, alors que les critères concernant la flaveur et la texture en bouche sont évalués après avoir coupé et goûté l'échantillon. Les données sont directement transmises à un ordinateur central pour leur traitement statistique.

VIII. Aromatisation de Yaourt par l'ajout de l'eau florale de Myrte fleur :

VII.1. Introduction

Bien que la fabrication et la consommation des laits fermentés remonte à la plus haute antiquité, les progrès réalisés dans l'élaboration, la standardisation et la diversification des yaourts correspondent pour la plupart aux efforts de recherche entrepris au cours du siècle dernier.

Avec les progrès technologiques réalisés, le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa texture. C'est un produit, consommé la plupart du temps comme dessert, très prisé de par le monde, car il convient à toutes tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait.

Traités au départ comme un déchet de la distillation des huiles essentielles, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus présents sur le marché des produits naturels. Les praticiens en aromathérapie les utilisent souvent en complément d'une thérapie par les huiles essentielles.

Malgré la faible proportion en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Leur popularité auprès des consommateurs est principalement due à leur non-toxicité par rapport aux huiles essentielles du fait de leurs faibles teneurs en principe actifs. Ils sont de ce fait beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles ce qui en fait un produit de choix pour les aromathérapeutes. Malgré cet engouement, les chercheurs s'intéressent peu aux hydrolats et à leurs potentiels thérapeutiques et il existe donc un réel manque de données fiables dans ce domaine.

VIII. 2. Préparation des échantillons

Des pots de yaourt nature sucré de 110 g sont récupérés à la sortie de l'emballeuse. L'ajout de l'eau florale a lieu dans des conditions d'asepsie à l'aide des seringues stériles.

Le mix de yaourt à la composition précisée ci-dessous :

Composition	Quantité
Lait en poudre	4000 L
Sucre	75 kg/1000L
Ferment	700 g/1000L

Les pots de yaourt sont par la suite incubés dans la chambre chaude (45°C). Pour réaliser le suivi de la fermentation, un pot de yaourt est prélevé toutes les 30 min puis est placé immédiatement dans un bac de glace afin d'arrêter la fermentation.

Pour les yaourts qui ont servi aux analyses sensorielles, les pots sont gardés dans la chambre d'étuvage pendant 4 heures puis ils sont entreposés immédiatement à 5°C à l'intérieur de la chambre froide. Les productions du yaourt sont dupliquées.

VIII.3. Analyses physico-chimiques de la matière première « lait »

Pour s'assurer de la qualité du lait frais utilisé dans la préparation du yaourt et pour avoir une bonne qualité du produit à la fin de la fabrication, le lait qui a servi à la préparation des yaourts a fait l'objet des analyses suivantes :

VIII.3.1. Détermination du pH (NF V05-108,1970)

La mesure du pH du lait est réalisée à l'aide d'un pH-mètre. La standardisation de l'appareil est assurée par l'usage de deux solutions tampon à pH 7 et à pH 4. La mesure s'effectue en introduisant les deux sondes (pH et température) dans un échantillon de lait de 40 ml préalablement chauffé à une température de 20-25°C.

VIII.3.2. Détermination de l'acidité

VIII.3.2.1. Définition

Nous entendons par acidité titrable du lait, celle exprimée conventionnellement en gramme d'acide lactique par litre du lait [104].

VIII.3.2.2. Principe

Il s'agit d'un titrage acido-basique, l'acide lactique est neutralisé par une solution d'hydroxyde de sodium NaOH (N/9) en présence de phénolphtaléine comme indicateur coloré.

VIII.3.2.3. Mode opératoire

Nous introduisons dans un Bécher 10 ml d'échantillon à analyser, auxquels on ajoute 2 à 3 gouttes de l'indicateur coloré. Puis nous titrons avec la solution NaOH (N/9) jusqu'à l'apparition d'une coloration rose. L'acidité titrable est calculée par la formule suivante :

$$AT=V \times 10(D°) \qquad \text{(eq71)}$$

Avec

AT : Acidité titrable

V : le volume en ml utilisé pour le dosage.

D° : Dalton

VIII.3.3. Détermination de la densité :

La densité du lait est une grandeur sans dimension qui désigne le rapport entre la masse d'un volume donné de lait à 20°C et la masse du même volume d'eau [105].

La densité est déterminée à 20°C par un lactodensimètre. Nous versons le lait dans l'éprouvette tenue inclinée afin d'éviter la formation de mousse ou des bulles d'air. Nous remplissons l'éprouvette jusqu'à un niveau tel que le volume restant soit inférieur à celui de la carène du lactodensimètre (il est commode de repérer ce niveau par un trait de jauge sur l'éprouvette).

L'introduction du lactodensimètre dans l'éprouvette pleine de lait provoque un débordement de liquide, ce débordement est nécessaire, il débarrasse la surface du lait des traces de mousse qui gêneraient la lecture. Placer l'éprouvette ainsi remplie en position verticale, il est recommandé de la plonger dans le bain à 20°C, lorsque la température du laboratoire n'est pas comprise entre 18°C et 22°C. Plonger doucement le lactodensimètre dans le lait en le maintenant dans l'axe de l'éprouvette en le retournant dans sa descente jusqu'au voisinage de sa position d'équilibre. Attendre trente secondes à une minute avant d'effectuer la lecture de la graduation, cette lecture étant effectuée à la partie supérieure du ménisque, lire la température. Si le lactodensimètre est utilisé à une température autre que 20°C, une correction de la lecture doit être réalisée de la façon suivante :

- Si la température du lait au moment de la mesure est supérieure à 20°C, augmenter de 0,0002 par degré au-dessus de 20°C.
- Si la température du lait au moment de la mesure est inférieure à 20°C, diminuer la densité lue de 0,0002 par degré au-dessous de 20°C.

VIII.3.4. Détermination des teneurs en protéines et en matière grasse :

La détermination des différents teneurs se fait par un MilkoScan FT120.

VIII. 3.4.1. Principe de fonctionnement du MilkoScan FT120

Le MilkoScan™ FT120 est un spectrophotomètre à FTIR (Infrarouge à Transformée de Fourrier) automatique de grande capacité (120 échantillons analysés par heure). Il utilise la technologie d'absorption spectroscopique en moyen infrarouge à Transformée de Fourrier.

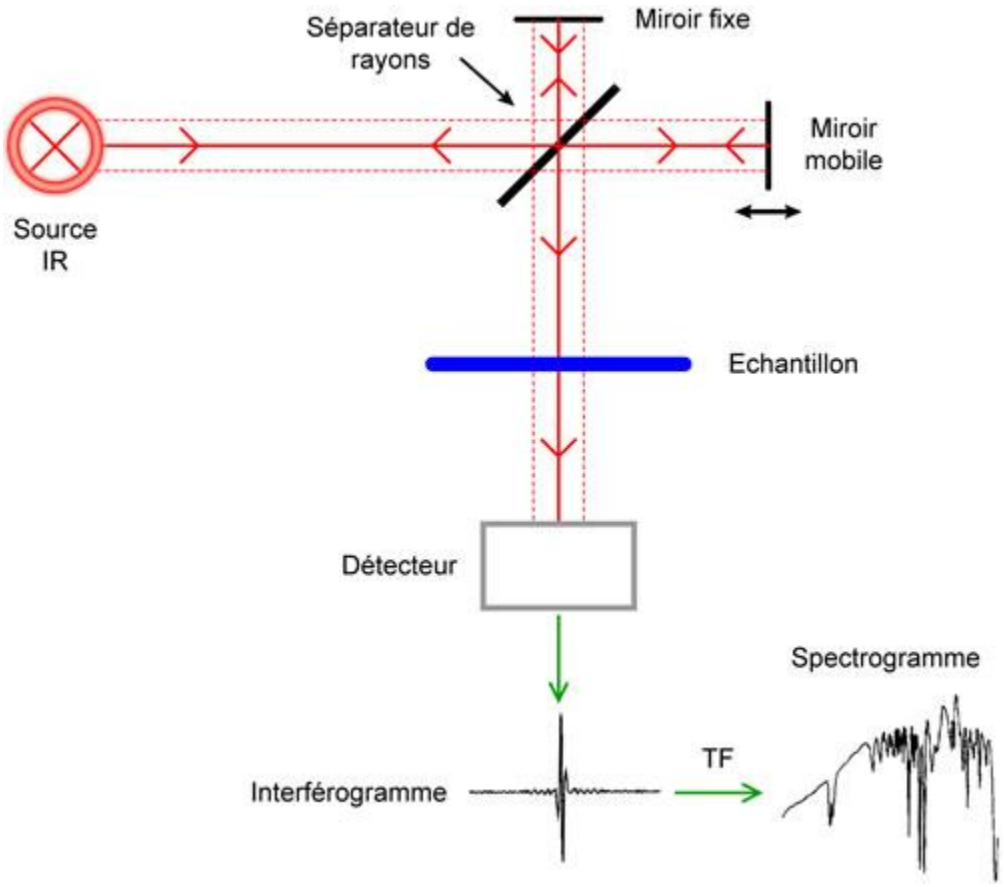


Figure 18. Principe de fonctionnement d'un spectromètre infra-rouge

VIII.4. Mesure et suivi la teneur en sucre réducteurs (méthode DNS) [106]

VIII.4.1. Principe du dosage par le DNS :

Le DNS (3,5-acide dinitro-salicylique) à chaud et en présence de sucres réducteurs développe un produit réduit de couleur rouge brun l'acide-3-amino-5-nitrosalicylique.

La technique du DNS est un moyen de détermination de la teneur en sucres réducteurs libres présents dans les échantillons à doser.

VIII.4.1.1. Mode opératoire

On place 500 µl de yaourt dilué et 500 µl de solution de DNS dans un tube en verre, le volume total est complété à 2 ml avec de l'eau distillée. Le mélange a été homogénéisé et chauffé au bain-marie bouillant pendant 10 min. La densité optique a été mesurée au spectrophotomètre à 550 nm contre un témoin contenant les réactifs à l'exception de l'échantillon. La quantité de sucres réducteurs libérés a été déterminée à l'aide d'une courbe d'étalonnage réalisée dans les conditions expérimentales.

L'équation de la courbe d'étalonnage est la suivante :

$$[\text{Sucre réducteurs}]_{\text{éqglc}}(g/l)=0,375*abs \quad \text{avec } R^2=0,99$$

VIII.4.1.2. Mesure et suivi du pH

Le pH a été mesuré à 20°C avec une sonde de pH/mètre (730 WTW, série MOLAB), étalonnée à 20°C (solutions tampon 4 et 7). Deux répétitions de chaque mesure ont été effectuées sur deux pots de yaourts.

VIII.5. Mesure et suivi de l'acidité

L'acidité Dornic du yaourt est titrée par la soude (N/10). Dans un bécher contenant 10g du produit, l'électrode du pH/mètre est immergée dans la suspension. Le contenu du bécher est titré avec une solution d'hydrogène de sodium (NaOH) N/10, jusqu'au pH de 8,30.

Les résultats sont exprimés en degré Dornic (°D) où1°D correspond à 0,1g/l d'acide lactique Deux répétitions de chaque mesure ont été effectuées sur deux pots de yaourt.

IX. Analyse sensorielle

Les tests sensoriels peuvent être divisés en deux catégories : affectifs et analytiques [107]. Les tests affectifs impliquent des consommateurs et leurs perceptions d'acceptabilité. Les tests analytiques impliquent le recours à des panélistes formés dont les réponses sont traitées comme des données expérimentales. La sélection des panélistes, leur formation et l'échelle d'évaluation adoptée sont des éléments clés de toute approche analytique descriptive.

Un groupe d'individus (généralement de 8 à 12) est utilisé pour l'analyse sensorielle descriptive afin d'avoir des résultats cohérents qui puissent être présentatifs [108]. Lors de cette mesure, le travail est focalisé sur l'impact des différents enrichissements, à savoir la poudre de lait, les concentrés de protéines sériques ou la caséine présure sur la qualité organoleptique du yaourt. Pour cela, nous avons eu recours à l'analyse descriptive qui est un outil de choix pour différencier les aliments qualitativement et quantitativement.

IX.1. Les sujets

Dix panélistes, âgés de 25 à 40 ans, essentiellement des membres du personnel de laboratoire, dont cinq sont du sexe féminin et trois du sexe masculin, ont été sélectionnés d'après leur disponibilité et volonté à participer à ces essais ainsi que leur expérience dans l'évaluation sensorielle. Celle-ci est réalisée à J+1 de chaque journée de production.

IX.2. L'environnement de la dégustation

Les séances ont eu lieu au niveau du laboratoire des analyses physicochimiques. Elles se sont déroulées dans une salle, où les conditions nécessaires à la réalisation des analyses sensorielles sont réunies en termes d'éclairage et de température.

Ces dernières ont permis de bien gérer les séances et de recueillir les réponses des sujets sans qu'il n'ait aucune influence entre les membres du panel.

IX.3. Les produits

Tous les échantillons sont enlevés du réfrigérateur 1 h avant le début de chaque session d'évaluation. La gamme d'échantillons est servie à une température allant de 10 à 12°C. Chaque yaourt est présenté dans un contenant plastique de 40 g et étiqueté avec un code de 3 chiffres. L'ordre de présentation des échantillons est randomisé.

IX.4. Déroulement des séances de dégustation

L'analyse est menée en suivant la procédure décrite par [102]. Les qualités organoleptiques évaluées concernent le gout, la texture, l'arôme et l'aspect.

L'aspect visuel qui consiste à examiner la surface des yaourts (présence de lactosérum), texture (Epaisseur « Thickness », Granulosité « lumpiness », et saveur (goût de cuit, goût de lactosérum, goût d'étable, aigre, salé, sucré, l'astringence, et l'arrière/goût). Chaque attribut est mesuré selon une échelle d'intensité universelle de 0 à 15, où 0 = non détecté et 15 = extrêmement fort.

L'analyse descriptive nécessite un lexique ou un langage pour décrire les propriétés sensorielles. Celui qui est adopté dans cette étude est présenté dans le tableau 13.

Tableau 13 : Langage sensoriel utilisé pour l'évaluation descriptive des yaourts

Terme	Définition	Référence
Lactosérum libre	Quantité de lactosérum présent à la surface du yaourt	Assigné aux panélistes
Granulosité « lumpiness »	Le degré de granulosité observé visuellement	Assigné aux panélistes
Epaisseur « Thickness »	La Force exigée pour comprimer le gel d'un yaourt dans la bouche	1 = eau, 10 = yaourt ordinaire avec 15% ndm
Cuit	Aromes associés avec le lait cuit	Lait chauffé à 85°C pendant 30 min.
Lactosérum	Aromes associés avec la poudre de lactosérum	Dissoudre 5 g de poudre de lactosérum dans 100 ml d'eau
Etable	Aromes associés avec les granges et les animaux	5% d'une solution de caséinate de sodium dans l'eau
Fermenté	Aromes associés avec le yaourt	Yaourt frais
Aigre	La sensation de goût aigre associé avec les acides	2 = 0,05% acide citrique ; 5 = 0,08% acide citrique.
Salé	La sensation du goût salé associé avec les sels	2,5 = 0,2% NaCl; 5 = 0,35% NaCl
Sucré	La sensation du goût sucré associé avec les sucres	2 = 2% saccharose ; 5 = 5% saccharose
Astringence	Sensation d'assèchement et de crispation sur la surface de la langue sous l'effet de certaines substances telles que les tanins	Le trempage pendant une heure d'un petit sachet de thé = 6,5
L'arrière-goût	Sensation de l'arrière/goût	Tâche assignée aux panelistes
Appréciation globale		Tâche assignée aux panelistes

X. Conclusion

La valorisation des espèces aromatiques et médicinales passe principalement par leur évaluation biochimique et biotechnologique à travers l'extraction, l'analyse et l'identification de leurs constituants et l'étude structurale de leurs composés biactifs.

Afin de contribuer à la mise en valeur des huiles essentielles, les applications industrielles de ces huiles dans divers domaines comme l'agroalimentaire et la pharmacie représente une grande importance et une valeur ajoutée remarquable.

Partie C

Résultats et discussion

I. Etude de la fleur de Myrte

1.1. Introduction

La teneur des huiles essentielles dans les plantes est relativement faible (<à 1%) et parfois difficile à extraire. Par suite, la récupération de quelques pour cent de ces matières actives, à forte valeur ajoutée, peut être déterminante pour la mise en œuvre du procédé. Ainsi, il est primordial de déterminer les conditions opératoires optimales d'extraction permettant de les récupérer en ayant recours à l'optimisation par la méthode des plans d'expériences. Dans ce chapitre, nous allons examiner l'effet de plusieurs facteurs sur le rendement de l'extraction par CO_2 supercritique de fleurs de myrte, par la suite nous identifierons la composition chimique des extraits obtenus par hydodistillation et par CO_2 supercritique, tout en comparant leur activité antioxydante.

I.2. Optimisation de l'extraction de Myrte en fleurs par plan de Doehlert modifié par l'algorithme de DETMAX (Voir Annexe I)

I.2.1. Analyse du plan d'expériences

Le plan d'expériences réalisé est un plan de Doehlert, c'est-à-dire un plan destiné à une optimisation expérimentale (sans passer par un modèle). Il n'est pas très bien adapté à une modélisation, tout au moins dans un hypercube. Le domaine exploré est ici « patatoïdique » [109], comme le montre les figures de représentation des niveaux pris par chaque facteur en fonction d'un autre facteur. Cette représentation en fonction des valeurs codées pour chaque facteur nous donne une idée sur la répartition des points expérimentaux dans le plan expérimental formé par deux facteurs (tableau 9, III 2.1). Au total nous avons 5 facteurs alors nous aurons 10 figures possibles dont nous représentons seulement 4.

Pour couvrir un hypercube, des expériences sont manquantes. Elles correspondent à celles d'un plan factoriel complet (plan de Hadamard ou de Tagushi).

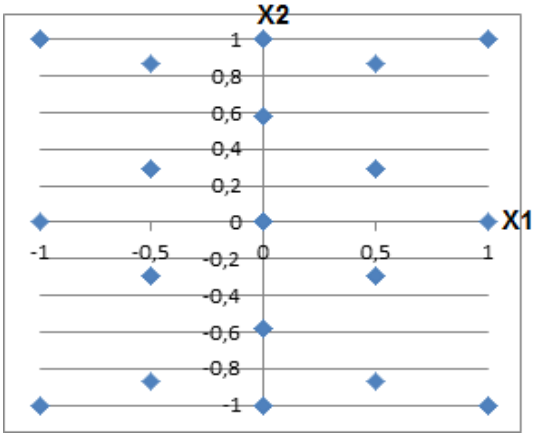


Figure 19. Espace expérimental formé par la pression et la masse de la plante

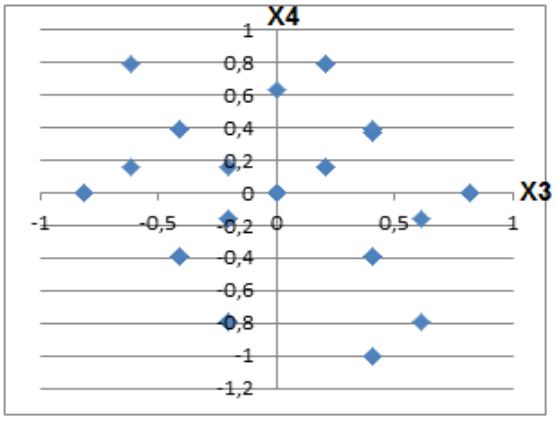


Figure 20. Espace expérimental formé par le temps de contact et la température

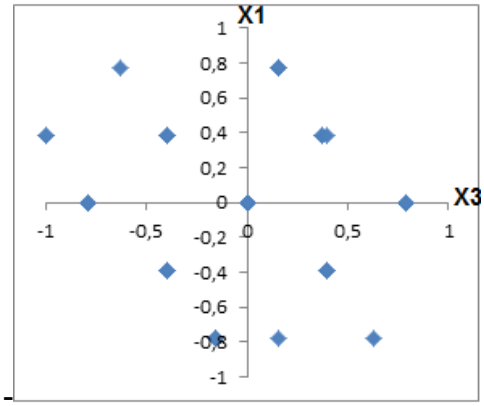


Figure 21. Espace expérimental formé par la pression et la température

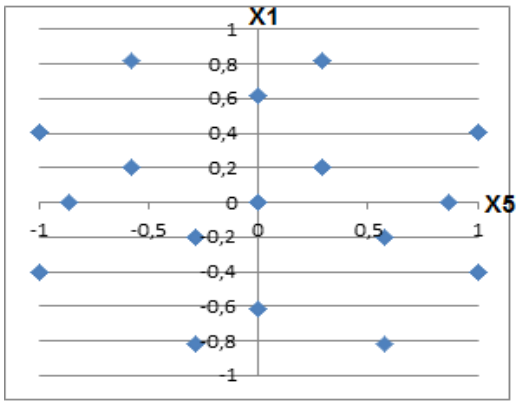


Figure 22. Espace expérimental formé par la pression et le débit du CO_2

Tableau 14 : Analyse des points expérimentaux du plan de Doehlert existant par rapport à un plan factoriel complet

Pression d'extraction X_1	Masse de la matière végétale X_2	Température d'extraction X_3	Temps de contact X_4	Débit de CO_2 X_5	Distance
1	1	1	1	-1	1,56
1	1	-1	1	-1	1,56
1	-1	1	1	-1	1,56
1	-1	-1	1	-1	1,56
-1	1	1	1	-1	1,56
-1	1	-1	1	-1	1,56
-1	-1	1	1	-1	1,56
-1	-1	-1	1	-1	1,56
1	1	1	1	1	1,46
1	1	-1	1	1	1,46
1	-1	1	1	1	1,46
1	-1	-1	1	1	1,46
-1	1	1	1	1	1,46
-1	1	-1	1	1	1,46
-1	-1	1	1	1	1,46
-1	-1	-1	1	1	1,46
1	1	1	-1	-1	1,45
1	1	-1	-1	-1	1,45
1	-1	1	-1	-1	1,45
1	-1	-1	-1	-1	1,45
-1	1	1	-1	-1	1,45
-1	1	-1	-1	-1	1,45
-1	-1	1	-1	-1	1,45
-1	-1	-1	-1	-1	1,45
1	1	1	-1	1	0,85
1	1	-1	-1	1	0,85
1	-1	1	-1	1	0,85
1	-1	-1	-1	1	0,85
-1	1	1	-1	1	0,85
-1	1	-1	-1	1	0,85
-1	-1	1	-1	1	0,85
-1	-1	-1	-1	1	0,85

Il faut rappeler que pour déterminer avec précision une pente avec 2 points, il faut que ces 2 points soient les plus éloignés possibles. De ce fait, il faut toujours commencer par réaliser les expériences les plus éloignées les unes des autres pour apprécier au mieux les effets linéaires, et compléter par des expériences intermédiaires pour prendre en compte les effets non linéaires. Dans le cas présent, les 8 expériences les plus éloignées de l'expérience réalisée la plus proche sont (distance égale à 1,56) les premières dans le tableau 14. Elles sont suivies par un ensemble de 16 expériences à une distance de 1,46 à 1,45.

Dans le dernier groupe, les 8 expériences sont les plus proches des expériences réalisées dans le plan utilisé avec une distance est égale à 0,85.

I.2.2. Etude du type d'erreur de mesure

Quatre expériences ont été répétées plusieurs fois (voir tableau 15). Le tableau 15 indique le numéro de l'expérience, les résultats du rendement, la moyenne et l'écart type par expérience. Au vu de la courbe obtenue à partir du tableau, il semble manifeste que l'erreur de mesure ne soit pas absolue (additive), mais relative (multiplicative).

Tableau 15 : Etude du type d'erreur expérimentale (voir tableau 19).

N° d'expérience	Rendement en extrait (%)				Moyenne (%)	Ecart type
1	0,8	0,87	0,9	0,88	0,863	0,043
12	1,11	0,523			0,817	0,415
15	0,77	0,982			0,876	0,150
36	2,02	1,5231	1,2675	1,3922	1,551	0,330

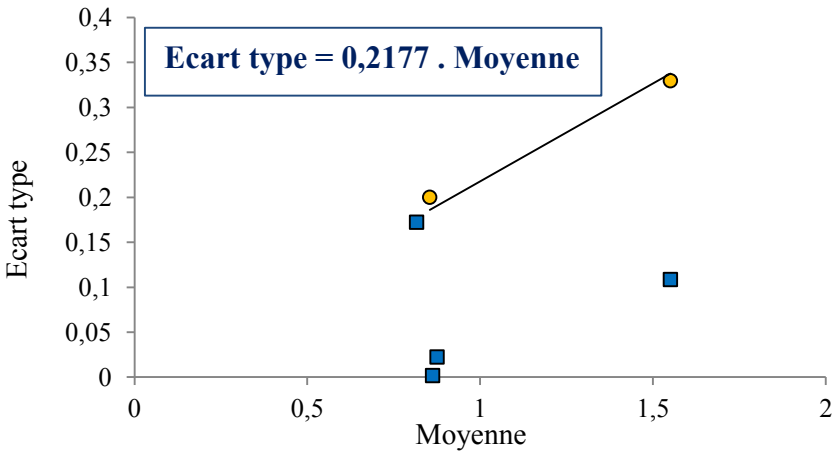


Figure 23. Variation de l'écart type en fonction de la moyenne pour chaque répétition

Comme la théorie de la modélisation statistique (surface de réponses) nécessite une erreur de mesure additive (absolue), nous modéliserons le logarithme népérien de la mesure (pour lequel l'erreur est additive lorsque l'erreur de mesure est relative).

Nous pouvons maintenant estimer la variance de l'erreur de « mesure » grâce aux 4 expériences répétées. Si la mesure d'origine est Y, la nouvelle « mesure » est ln(Y). A l'aide du tableau N°15 nous obtenons le tableau 16.

Tableau 16 : Analyse de la variance d'erreur expérimentale

N° d'expérience	Nombre de degrés de liberté (nombre de répétition -1)	Moyenne des ln(Y)	Somme des carrés des écarts
1	3	-0,149	0,008
12	1	-0,272	0,283
15	1	-0,140	0,030
36	3	0,423	0,122
Total	8		0,442

Dans la somme des carrés des écarts, nous entendons les écarts entre les « mesures » et la moyenne. La variance de l'erreur de « mesure » est donnée par :

$$variance = \frac{0{,}442}{8} = 0{,}0553$$

I.2.3. Analyse préliminaire de l'importance des facteurs

Comme le plan de Doehlert n'est pas D-optimal [110], il ne conduit pas à la meilleure identification paramétrique. De ce fait, il existe un risque d'une mauvaise convergence de la procédure de réduction de modèle.

Afin d'apprécier l'importance de chaque facteur, nous ferons, dans un premier temps, une modélisation simple, de type affine :

$$ln(Y) = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_3x_3 + a_4x_4 + a_5x_5 \qquad \text{(eq72)}$$

Où les facteurs x_i sont la pression, la masse de la matière végétale utilisée, la température, le temps de contact et le débit de CO_2.

L'identification paramétrique, menée avec les 55 « mesures » (voir tableau 18, 19 et 20, a donné une variance d'identification de 0,183 (à comparer à 0,0553), et les résultats suivants :

Tableau 17 : Estimation des coefficients du modèle linéaire

Paramètre	Domaine de confiance vrai		Domaine de confiance réduit		Valeur
a_0	-0,472	-0,038	-0,469	-0,041	-0,255
a_1	0,465	1,225	0,486	1,204	0,845
a_2	-0,312	0,327	-0,309	0,323	0,007
a_3	-0,721	0,311	-0,710	0,300	-0,205
a_4	-0,189	0,728	-0,158	0,697	0,270
a_5	-0,100	0,996	-0,085	0,981	0,448

Nous constatons que seuls les domaines de confiance du second paramètre sont centrés sur 0. Ce paramètre n'est donc pas significativement différent de 0. Ceci indique que l'influence de la masse de la matière végétale est faible. Pour la suite de la modélisation, nous négligerons

l'effet direct de ce facteur, tout en le conservant dans les termes croisés (on ne l'élimine pas complètement). Des essais de modélisation ont permis de conforter cette approche.

I.2.4. Identification paramétrique

Le modèle retenu est le polynôme complet du 2ème degré dont on a exclu la puissance 1 du 2ème facteur conformément à ce qui a été vu dans l'étude préliminaire :

$$\begin{aligned} ln(Y) = {} & a_0 + a_1x_1 + a_2x_3 + a_3x_4 + a_4x_5 + a_5x_1^2 + a_6x_2^2 + a_7x_3^2 + a_8x_4^2 + a_9x_5^2 \\ & + a_{10}x_1x_2 + a_{11}x_1x_3 + a_{12}x_1x_4 + a_{13}x_1x_5 + a_{14}x_2x_3 + a_{15}x_2x_4 + a_{16}x_2x_5 \\ & + a_{17}x_3x_4 + a_{18}x_3x_5 + a_{19}x_4x_5 \end{aligned}$$

On dispose de 47 (voir tableaux 18,19 et 20) expériences différentes, dont 4 ont été répétées (tableau 19). Les 4 expériences répétées forment l'ensemble de répétition, et les 43 autres doivent être réparties dans un ensemble d'identification (tableau 20) et un ensemble de validation (tableau 18). Usuellement, l'ensemble d'identification est formé de deux tiers des expériences utilisables et celui de validation du dernier tiers restant. Nous choisirons donc 29 expériences parmi les 43, pour faire partie de l'ensemble d'identification, par D-optimalité.

La D-optimalité consiste à minimiser l'erreur sur les paramètres du modèle. L'algorithme utilisé pour extraire 29 expériences D-optimales parmi les 43 est l'algorithme DETMAX (déterminant maximum), dérivé de l'algorithme de Federov [111]. La figure 24 montre l'évolution du déterminant de la matrice d'information de Fisher en fonction des itérations de l'algorithme DETMAX.

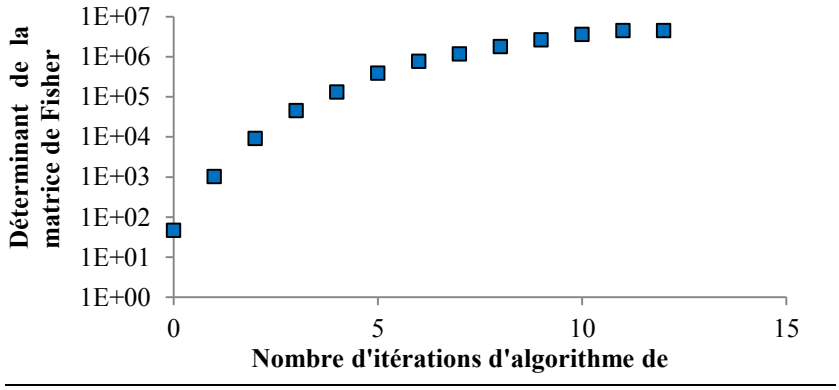


Figure 24. Variation du déterminant de la matrice de Fisher en fonction du nombre d'itérations

Les 4 expériences répétées sont les n° 1, 12, 15 et 36. Les 14 expériences non sélectionnées par DETMAX et servant à la validation sont les N° 2, 3, 4, 6, 9, 13, 14, 20, 24, 26, 27, 28, 41 et 47. Les 29 autres forment l'ensemble d'identification.

L'algorithme de DETMAX nous a permis d'obtenir la matrice de validation présentée par le tableau 18 et la matrice d'identification présentée par le tableau 19, ainsi que les vecteurs de réponses correspondant à ces deux vecteurs.

Tableau 18 : Matrice de validation

N° d'expérience	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	Ln(Y)
3	0,5	0,866	0	0	0	0,2624
4	-0,5	0,866	0	0	0	-0,4308
5	-1	0	0	0	0	-1,0200
6	-0,5	-0,866	0	0	0	-0,4155
7	0,5	-0,866	0	0	0	0,0 410
9	-0,5	0,289	0,816	0	0	-0,5801
13	0	0,577	-0,816	0	0	0,0677
14	0,5	0,289	0,204	0,791	0	0,1044
20	0	0,577	-0,204	-0,791	0	-0,12800
24	0	-0,577	0,204	0,158	0,775	-0,199
26	0	0	0	-0,632	0,775	-0,139
27	0,5	-0,289	-0,204	0,158	-0,775	0,1133
28	-0,5	-0,289	-0,204	-0,158	-0,775	-1,2379
41	0	-1	0,408	0,395	-0,3875	-0,1165

L'identification paramétrique est réalisée suivant la méthode du maximum de vraisemblance de Fisher [112], qui correspond ici au minimum de variance. Celle-ci étant faite, nous pouvons calculer les simulations de chaque expérience des 3 ensembles, d'identification, de validation et de répétition. Par comparaison avec les mesures, les variances d'erreur des ensembles d'identification, de validation et de répétition sont évaluées. La variance d'identification permet de déterminer le domaine de confiance de chacun des paramètres du modèle. Nous appelons intervalle de confiance réduit d'un paramètre, l'intervalle obtenu en fixant tous les autres paramètres à la valeur de leur estimation. Ceci permet de s'affranchir des corrélations entres paramètres.

Tableau 19 : Matrice de répétition

N° d'expérience	X1	X2	X3	X4	X5	Ln(Y)
1	0	0	0	0	0	-0,2231
1	0	0	0	0	0	-0,14
1	0	0	0	0	0	-0,105
1	0	0	0	0	0	-0,1279
12	-0,5	-0,289	-0,816	0	0	0,1044
12	-0,5	-0,289	-0,816	0	0	-0,649
15	-0,5	0,289	0,204	0,791	0	-0,26137
15	-0,5	0,289	0,204	0,791	0	-0,0191
36	1	1	0,408	-1	0,3875	0,7031
36	1	1	0,408	-1	0,3875	0,42074
36	1	1	0,408	-1	0,3875	0,2370
36	1	1	0,408	-1	0,3875	0,3309

Tableau 20 : Matrice d'identification

Numéro d'expérience	X1	X2	X3	X4	X5	Ln(Y)
2	1	0	0	0	0	0,4886
8	0,5	0,289	0,816	0	0	-0,134
10	0	-0,577	0,816	0	0	-0,400
11	0,5	-0,289	-0,816	0	0	0,077
16	0	-0,577	0,204	0,791	0	0,48
17	0	0	-0,612	0,791	0	0,565
18	0,5	-0,289	-0,204	-0,791	0	0,37157
19	-0,5	-0,289	-0,204	-0,791	0	-1,0789
21	0	0	0,612	-0,791	0	-0,274
22	0,5	0,289	0,204	0,158	0,775	0,077
23	-0,5	0,289	0,204	0,158	0,775	-0,26
25	0	0	-0,612	0,158	0,775	-0,083
29	0	0,577	-0,204	-0,158	-0,775	-0,5276
30	0	0	0,612	-0,158	-0,775	-0,6162
31	0	0	0	0,632	-0,775	-0,3285
32	0	1	0,408	0,37	0,3875	-0,1165
33	1	-1	0,408	0,37	0,3875	0,1906
34	-1	1	-0,408	0,395	0,3875	-0,03046
35	0	-1	0,408	-1	0,3875	-0,4943
37	-1	-1	0,408	-0,395	0,3875	-0,994
38	0	1	-0,408	-0,395	0,3875	0,379
39	1	-1	-0,408	-0,395	0,3875	0,010
40	-1	1	0,408	0,395	-0,3875	-2,813
42	1	1	-0,408	0,395	-0,3875	0,3501
43	-1	-1	-0,408	0,395	-0,3875	-1,892
44	0	1	0,408	-0,395	-0,3875	-0,4001
45	1	-1	0,408	-0,395	-0,3875	0,3506
46	-1	1	-0,408	-0,395	-0,3875	-2,408
47	0	-1	-0,408	-0,395	-0,3875	-0,2232

Un paramètre n'est pas significativement différent de zéro si son intervalle de confiance réduit est centré sur 0. On appelle réduction de modèle le fait de fixer à 0 le paramètre dont l'intervalle de confiance réduit est le plus centré sur 0. Pour accepter une réduction de modèle il faut que la plus grande variance, parmi les 3 d'identification, de validation et de répétition, n'augmente pas après la réduction. La figure 25 présente les 3 variances en fonction du nombre de réductions. La variance d'erreur de mesures est calculée initialement et est indépendante des réductions.

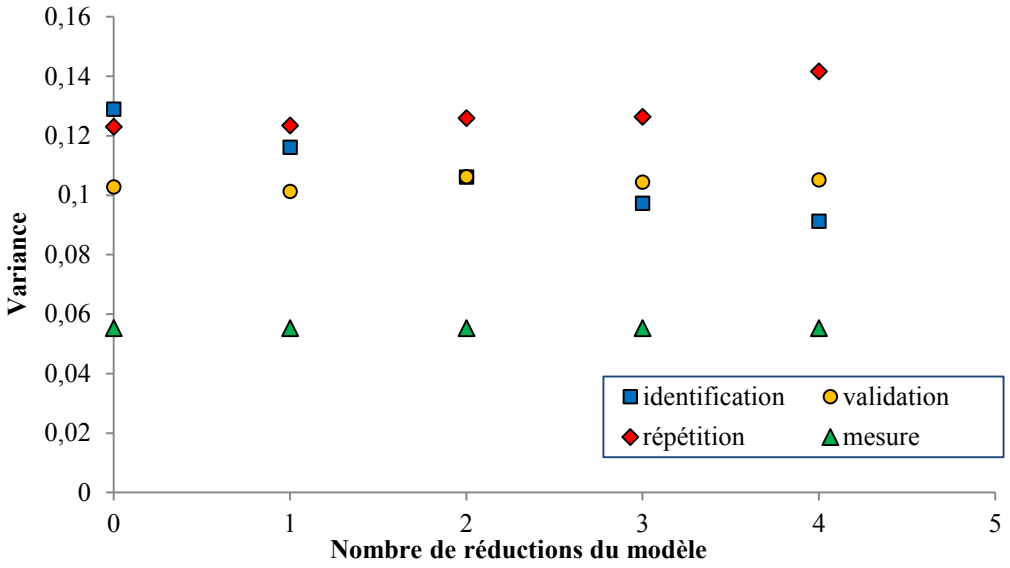


Figure 25. Variation les trois types de variance en fonction des itérations

Initialement, c'est la variance d'identification qui est la plus élevée, mais dès la 1ère réduction sa diminution est suffisamment importante pour que la plus grande variance devienne celle de répétition. Lors des réductions des modèles suivants, la variance la plus grande (répétition) ne fait qu'augmenter sans réel gain concernant celle de validation. La variance d'identification ne fait que diminuer, mais ceci est probablement dû à un sur-ajustement (overfitting). Nous arrêtons donc la réduction du modèle après la 1ère itération.

Tableau 21 : Estimation des coefficients du modèle final

Paramètre	Effet	Valeur	Minimum	Maximum
a_0		0,169	-2,169	2,507
a_1	x_1	0,908	0,135	1,681
a_2	x_3	-0,179	-1,311	0,954
a_3	x_4	0,303	-0,825	1,432
a_4	x_5	0,554	-0,604	1,713
a_5	x_1*x_1	-0,476	-2,161	1,208
a_6	x_2*x_2	-0,149	-1,481	1,182
a_7	x_3*x_3	-0,699	-4,391	2,993
a_8	x_4*x_4	0,075	-3,268	3,418
a_9	x_5*x_5	-0,603	-3,755	2,550
a_{10}	x_1*x_2	0,081	-1,191	1,354
a_{11}	x_1*x_3	0,095	-2,366	2,556
a_{12}	x_1*x_4	-0,518	-3,178	2,142
a_{13}	x_1*x_5	-1,167	-4,228	1,894
a_{14}	x_2*x_3	-0,425	-2,877	2,028
a_{15}	x_2*x_4	-0,371	-2,733	1,991
a_{17}	x_3*x_4	-0,326	-3,805	3,154
a_{18}	x_3*x_5	-0,240	-3,743	3,263
a_{19}	x_4*x_5	0,134	-4,201	4,470

Le paramètre fixé à 0 est a_{16}, correspondant à l'interaction x_2x_5. Le paramètre le plus significatif (dont l'intervalle de confiance est le moins centré sur 0) est a_1, correspondant à la pression, ce qui est cohérent avec l'étude préliminaire. Le tableau 21 présente la valeur des paramètres et leur intervalle de confiance (min et max).

Le nombre important de paramètres a tendance à diminuer la valeur de chacun d'eux, sans pour autant réduire l'erreur sur chacun d'eux. De ce fait, l'intervalle de confiance est large par rapport à la valeur de chaque paramètre. Tous les intervalles de confiance contiennent 0, sauf celui d'a_1. Cependant, ceci ne signifie pas que ces paramètres soient significativement nuls, car leurs intervalles de confiance ne sont pas réellement centrés sur 0.

L'existence de corrélation entre les paramètres augmente la taille des intervalles de confiance, nous devons donc contrôler la valeur des coefficients de corrélation 2 à 2. La figure 26 présente la fréquence de tranches de coefficients de corrélation (0 à 0,2; 0,3 à 0,4; 0,4 à 0,6; 0,6 à 0,8 et 0,8 à 1) sous la forme de pourcentage.

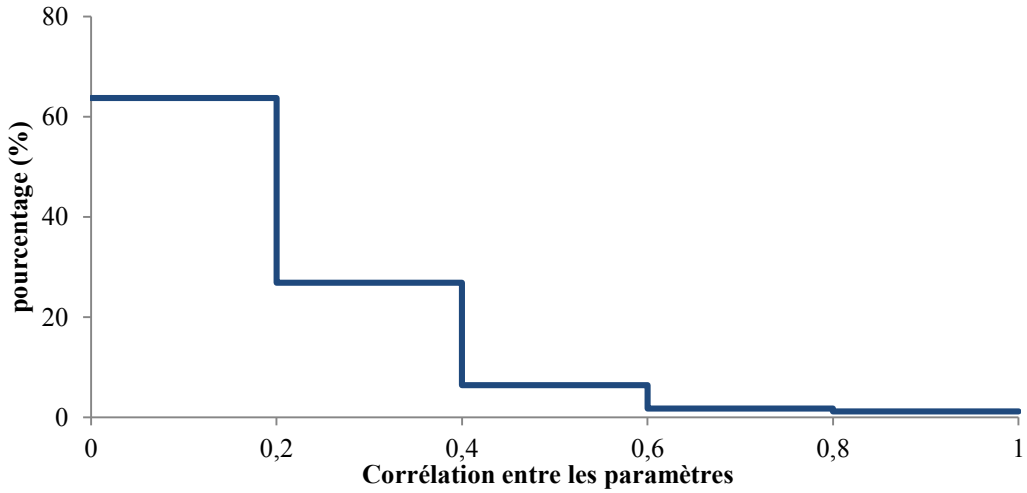


Figure 26. Représentation de la corrélation totale entre les paramètres du modèle

Sur 171 couples de paramètres, seuls 5 ont un coefficient de corrélation supérieur à 0,6. Ceux ayant un coefficient de corrélation supérieur à 0,8 sont a_0-a_8 et a_0-a_9, ce qui correspond à un couplage entre la constante et les carrés de x_4 et x_5. Les autres (entre 0,6 et 0,8) sont a_0-a_7, a_7-a_9 et a_8-a_9, ce qui indique un couplage entre la constante et le carré de x_3 d'une part, et entre les carrés de x_5 et ceux de x_3 et x_4 d'autre part. Ce résultat est surprenant car, en général, lorsque la courbure de la surface de réponse est faible, il existe une corrélation entre les puissances 2 et 1 des facteurs. Ici, c'est entre la constante et les puissances 2 de x_3, x_4 et x_5, ainsi qu'entre carrés. Cependant, il s'agit d'un signe de faible non-linéarité de ln(Y) en fonction de x_3, x_4 et x_5. Ce n'est pas le cas en ce qui concerne x_1, ce qui conforte le choix d'un modèle non linéaire. Le résultat global est que les paramètres sont très peu corrélés entre eux, ce qui est remarquable et confirme la bonne qualité du modèle et de l'identification paramétrique, donc du plan d'expérience.

I.2.5. Validation du modèle

Pour valider le modèle nous utiliserons les tests de Fisher Snedecor et de Student. Dans le cas du test de Fisher Snedecor, nous comparerons les variances d'erreur des ensembles d'identification, de validation et de répétition à la variance d'erreur de mesure, ainsi qu'entre-elles.

En théorie, nous n'avons pas le droit d'utiliser le test de Fisher Snedecor pour comparer la variance d'erreur de répétition et celle de mesure car il s'agit des mêmes mesures et donc des mêmes erreurs de mesures (variances non indépendantes), néanmoins nous ferons tout de même cette comparaison, tout en sachant que nous pourrons contester un résultat négatif s'il s'agit de la seule comparaison rejetant le modèle. Le test de Fisher Snedecor permet de vérifier si deux erreurs indépendantes sont bien du même ordre de grandeurs, ce qui doit être réalisé quel que soit les ensembles de données comparées si le modèle est exact.

Les tests de Fisher Snedecor et de Student utilisés l'ont été à 90% (et non à 95% comme usuellement), ce qui veut dire que ces tests ont un risque de 10% de rejeter le modèle par erreur. C'est donc être exigeant avec le modèle que de choisir un tel risque, les intervalles de confiance étant alors plus petits qu'avec 95%. Pour les 2 types de test, l'intervalle de confiance est formé d'une valeur minimum et d'une valeur maximum. Dans les 2 cas, le risque de 10% se décompose en un risque de 5% à gauche et un risque de 5% à droite. Le tableau 22 présente 6 rapports de variances, dont celui répétition/mesure dont nous avons mis en doute la validité. Deux colonnes indiquent les degrés de liberté du numérateur (gauche) et du dénominateur (droit), elles sont suivies de la valeur de chaque rapport et de son intervalle de confiance. Les 6 valeurs sont comprises dans leur intervalle de confiance, donc aucun de ces tests de Fisher Snedecor ne permet de rejeter le modèle.

Tableau 22: Test de Fisher Snedecor

Rapports de variance	Nombres de degrés de liberté		Rapport	Minimum	Maximum
Identification/mesure	10	8	2,100	0,326	3,35
Validation/mesure	14	8	1,832	0,370	3,24
Répétition/mesure	12	8	2,233	0,351	3,28
Validation/Identification	14	10	0,872	0,385	2,86
Répétition/Identification	12	10	1,064	0,364	2,91
Validation/Répétition	14	12	0,820	0,395	2,64

Le test de Student permet de vérifier s'il existe ou non des données aberrantes. Il s'agit d'un test local par rapport au test de Fisher Snedecor qui est global pour deux ensembles de données.

Ici l'intervalle de confiance est obtenu à partir de l'ensemble d'identification, ce qui exclut de l'appliquer à ces mêmes données (non-indépendance), néanmoins nous l'appliquerons tout de même en sachant que s'il en résulte un rejet du modèle, ce rejet pourra éventuellement être contesté. Sur la figure 27, les mesures sont portées sur l'axe vertical et les simulations sur l'axe horizontal.

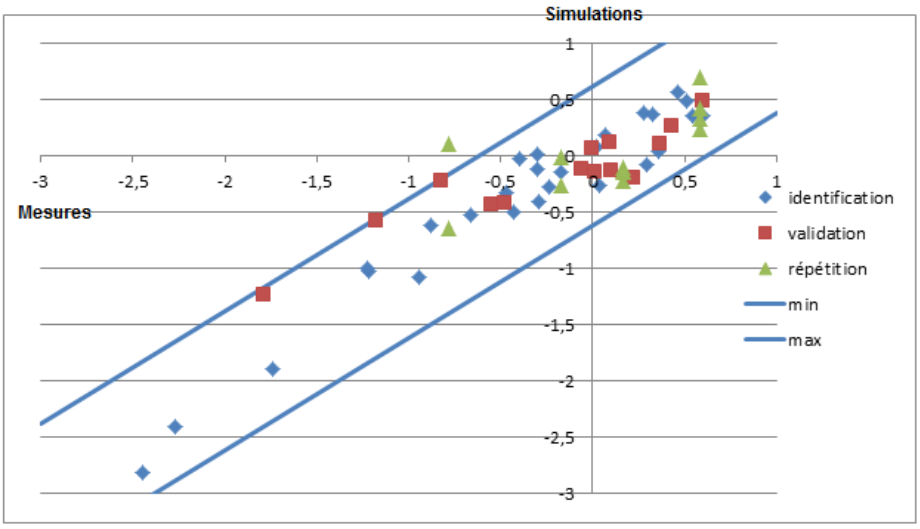


Figure 27. Représentation des résultats du Test de Student

Les 2 traits obliques correspondent à l'intervalle de confiance (à 90%) et les points aux 3 ensembles d'identification, de validation et de répétition. Nous constatons que seule une mesure de répétition est en dehors de l'intervalle de confiance sur 55 points. Compte tenu du risque choisi il aurait été théoriquement possible que 10% des points soient en dehors du domaine de confiance, ce qui n'est pas le cas. Par ailleurs, il s'agit de la mesure 1,11 (ln (1,11) =0,104) de l'expérience n°12 pour laquelle la deuxième mesure a donné 0,523 (ln (0,523) =-0,65), donc une mesure très élevée, sans doute fortement entachée d'erreur.

Finalement, aucun des tests de Fisher Snedecor ou de Student ne permettent de rejeter le modèle, nous le considèrerons donc comme validé.

I.2.6. Preuve de l'intérêt de l'analyse préliminaire

Si nous n'avions pas effectué l'analyse préliminaire (I.2.3) nous n'aurions pas éliminé le terme linéaire en x_2 du modèle. Dans ce cas, la sélection de l'ensemble d'identification aurait été différente puisque le modèle est différent. L'ensemble de répétition est le même, mais, en ce qui concerne l'ensemble de validation, les expériences n°3 et 47 du paragraphe I.2.3 sont remplacées par les expériences n°5 et n°7, et inversement pour l'ensemble d'identification.

Comme montré sur la figure 29, nous avons poussé le nombre de réductions du modèle jusqu'à 6 sans que le terme x_2 soit éliminé du modèle. La conséquence de ce fait est que la variance d'erreur de répétition (écarts mesures – simulations) est supérieure à 0,45 alors que la variance d'erreur de mesure (écarts mesures – moyennes pour les mêmes mesures) est de 0,055. La différence est beaucoup trop grande pour que le modèle soit validé, d'ailleurs le test de Student est négatif (figure 29) avec 9 points en dehors de l'intervalle de confiance sur 55. Ce modèle est donc rejeté.

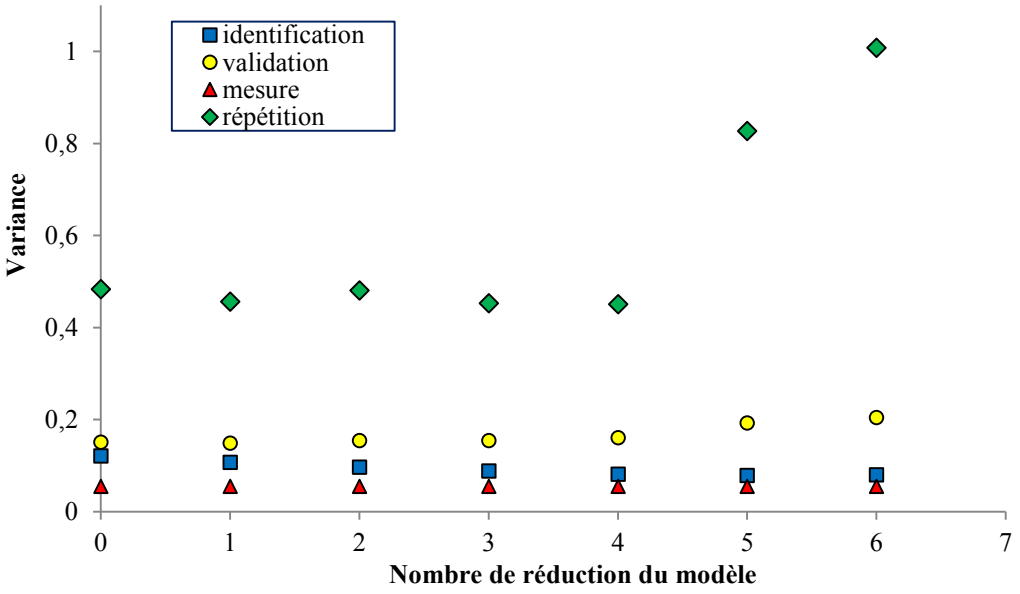


Figure 28. Analyse des variances avant l'étude préliminaire

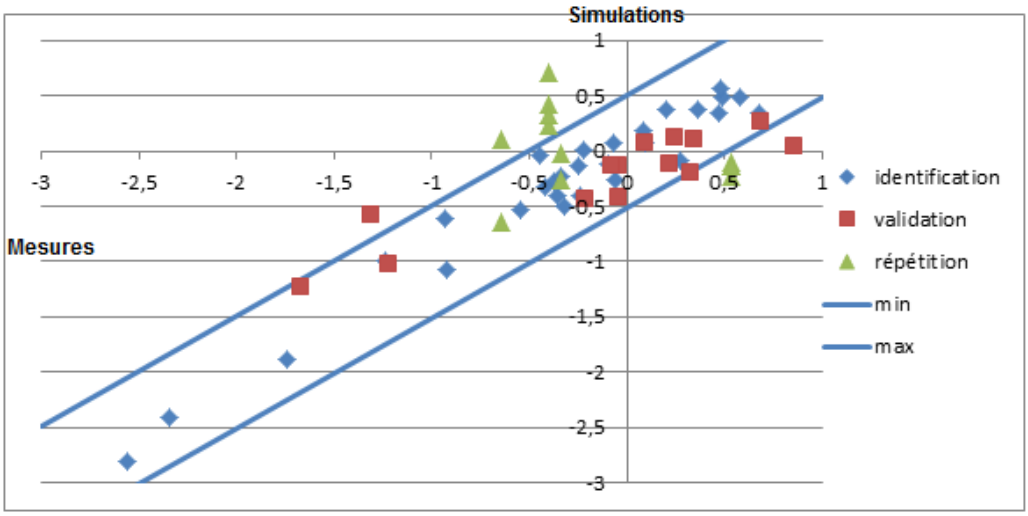


Figure 29. Résultats du Test de Student avant l'étude préliminaire

I.2.7. Interprétation du modèle et détermination des conditions optimales d'extraction

L'analyse du modèle obtenu à la fin de la modélisation nous donnera l'effet de chaque facteur sur le rendement, et cela en examinant les coefficients du modèle attribués pour chaque facteur seul ainsi que ses interactions. Le modèle final retenu après élimination des coefficients non significatifs est :

$$ln(Y) = 0{,}169 + 0{,}908.x_1 - 0{,}179.x_3 + 0{,}303.x_4 + 0{,}554.x_5 - 0{,}476.x_1^2 - 0{,}149.x_2^2 - 0{,}699.x_3^2 + 0{,}075.x_4^2 - 0{,}603.x_5^2 + 0{,}081.x_1x_2 + 0{,}095.x_1x_3 - 0{,}518.x_1x_4 - 1{,}167.x_1x_5 + -0{,}425.x_2x_3 - 0{,}371.x_2x_4 - 0{,}326.x_3x_4 - 0{,}240.x_3x_5 + 0{,}134.x_4x_5 \quad \text{(eq73)}$$

La représentation de chaque courbe est réalisée à partir du modèle établi en faire variant les facteurs deux à deux et maintenant à chaque fois les 3 autres facteurs au niveau 0 qui correspond

à la valeur au centre de chaque facteur. L'ensemble des courbes est représenté dans les 4 figures ci-dessous. D'après les courbes 30 et 31, nous constatons que la pression est le facteur le plus influençant sur le rendement d'extraction qui peut être expliqué par le fait qu'à haute pression la masse volumique du solvant est très importante, dans cette condition la densité élevée de CO_2 permet au solvant de solubiliser des composés à masse molaire importante qui influence le rendement global. Nous remarquons qu'effectivement quand la pression augmente, la masse volumique du solvant (CO_2) augmente, cependant la pression de vapeur du soluté va certainement diminuer. A des hautes pressions, la variation de la masse volumique est moindre et devient moins importante, alors que celle de la pression de la vapeur du soluté devient plus importante.

Ceci permet d'atténuer les effets de la variation de la masse volumique du fluide sur le taux d'extraction.

Par conséquent, l'élévation de la pression à température constante, a un effet positif sur le taux d'extraction qui est contrôlé par un équilibre entre les variations de masse volumique du solvant et celle de la pression de la vapeur du soluté.

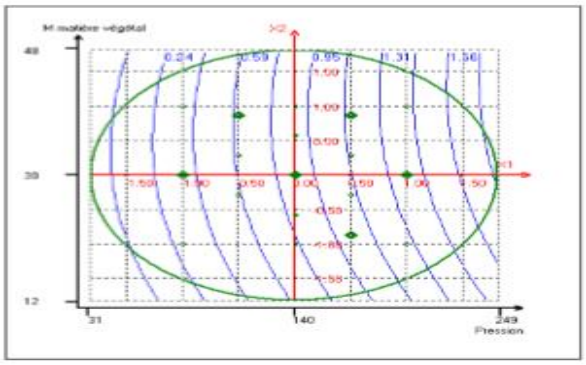


Figure 30. Variation de la réponse - rendement dans le plan : Pression(X_1), Masse de la matière végétal(X_2) : FACTEURS FIXES : Température = 50 °C ; Temps de contact = 30 minutes ; Débit de CO_2 = 0,9 kg/h

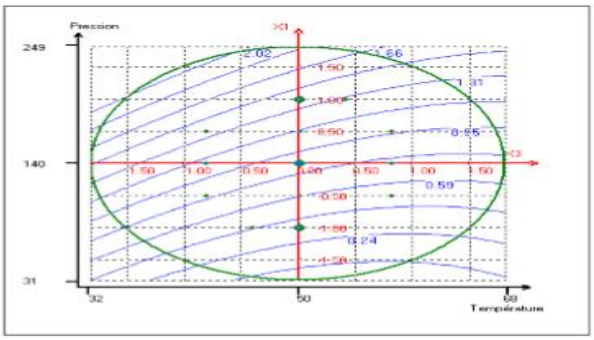


Figure 31. Variation de la réponse - rendement dans le plan : Température(X_3), Pression(X_1), FACTEURS FIXES : Masse de la matière végétale = 30 g ; Temps de contact = 30 minutes ; Débit de CO_2 = 0,9 kg/h

En examinant la courbe 33 nous avons un rendement optimal en fixant la pression à sa valeur maximale (200bar) et le débit de CO_2 à une valeur moyenne de l'ordre 0,9kg/h. Cette valeur

moyenne de débit pour un rendement assez important de l'ordre de 1,37%, peut être expliquée physiquement par le fait qu'à ce débit nous aurons un temps de séjour optimal pour assurer un bon transfert de matière. Dans la courbe 30, nous constatons que l'allure de la courbe d'isoréponse est presque parallèle à l'axe qui porte les valeurs de X_2, cela montre un faible effet de la masse de la matière végétal sur le rendement global.

L'influence de la température sur la solubilité d'une substance dans un solvant supercritique est plus difficilement prédictible que celle de la pression. A pression élevée, le fluide est difficilement compressible et donc la solubilité augmente avec la température suivant ainsi l'augmentation de pression de vapeur du soluté.

D'après la courbe 31 l'effet de la température est négatif sur le rendement global, où nous avons le maximum du rendement pour une température proche de 40°C.

Ce comportement peut être expliqué par le fait qu'à des pressions intermédiaires, le fluide est hautement compressible et une faible augmentation de la température entraîne une forte diminution de la masse volumique et parallèlement la solubilité du composé diminue dans le fluide supercritique. La pression à laquelle s'effectue le changement de l'influence de la température sur la solubilité du composé a été défini comme la pression de croisement ou de « Crossover » au-dessus de celle-ci, la solubilité du composé est favorisée par une augmentation de la température, en dessous de celle-ci, l'effet inverse se produit. Dans notre cas nous n'avons pas remarqué l'effet inverse suite aux conditions opératoires choisies.

L'effet du temps de contact a été évalué par la représentation graphique de la figure 32, nous avons le maximum du rendement pour un temps de contact proche de 40 minutes. C'est le temps nécessaire pour avoir une saturation du solvant en extrait ou le temps nécessaire pour établir un état d'équilibre soluté-solvant pendant la période statique d'extraction.

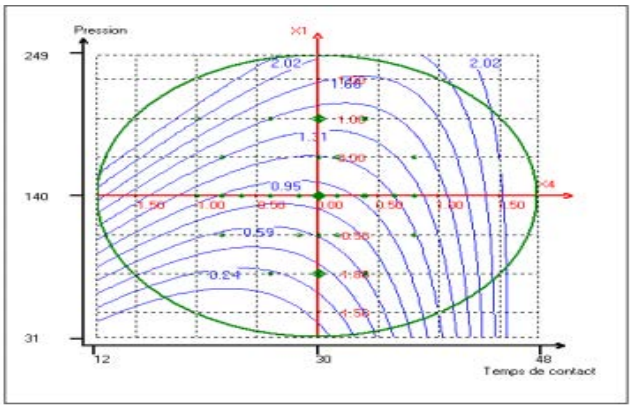


Figure 32. Variation de la réponse - rendement dans le plan : Temps de contact(X_4), pression(X_1) : FACTEURS FIXES : Masse de la matière végétale=30g Température= 50°C ; Débit de CO_2 = 0,9 kg/h

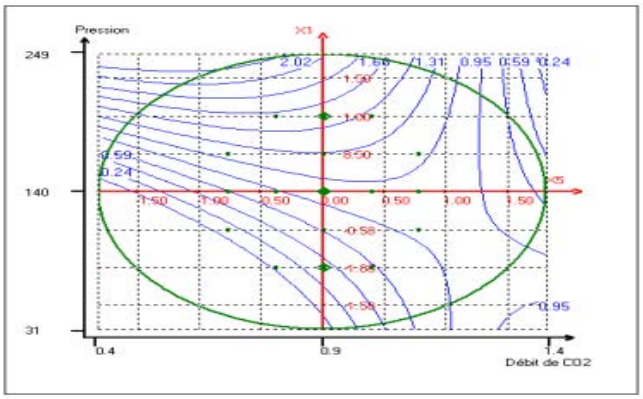


Figure 33. Variation de la réponse - rendement dans le plan : pression(X_1), débit de CO_2 (X_5) : FACTEURS FIXES : Masse de la matière végétale = 30 g ; Température= 50°C ; Temps de contact = 30 minutes

Les travaux sur l'optimisation de l'extraction des fleurs de myrte par CO_2 supercritique n'existent pas dans la bibliographie, mais on peut comparer nos résultats par rapport aux travaux réalisés sur les feuilles de myrte, Pereira et al. [113] ont étudié l'influence de la pression, de la température et du débit CO_2 sur le rendement global. En comparant nos résultats avec les résultats trouvé par Pereira et al., on peut conclure que l'effet de la pression reste le même pour les deux plantes, mais les deux autres facteurs ont des effets inverses de ce que nous avons trouvé, cela peut être expliqué par la morphologie de la plante et par la nature de l'organe de la plante traitée.

Zerman et al. [114] ont étudié l'influence de la pression et la température sur le rendement d'extraction des feuilles du Myrte Algérien, ils ont constaté qu'une augmentation de la pression conduit à une augmentation de la solubilité et que l'effet de la température est négatif sur la solubilité des extraits en milieu supercritique.

En résumé pour avoir un maximum du rendement de 1,3 % en extrait des fleurs de myrte, on doit travailler à ces conditions opératoires :

Pression : 200 bars

Température : 40°C

Débit : 0,9kg/h

Temps de contact : 40 minutes

Masse de la matière végétale : pas d'influence (20-40 g)

Chaque étape d'optimisation d'extraction est suivie par une analyse chimique d'extrait afin d'identifier et de valoriser les extraits pour donner une valeur ajoutée au produit d'extraction. Dans le paragraphe suivant nous allons étudier la composition d'un extrait de myrte obtenu dans les conditions permettant d'avoir le maximum de rendement, et la comparer à celle de la composition d'huile essentielle pour mieux mettre en valeur notre procédé d'extraction.

I.3. Comparaison de la composition chimique et de l'activité antioxydante de l'huile essentielle de fleurs issu par hydrodistillation et d'extrait obtenu par CO_2 supercritique

I.3.1. Composition chimique

Le tableau 23 nous montre que l'α-pinène est le composé majeur de l'huile essentielle de la fleur de myrte avec (42,53%), l'huile essentielle est caractérisée également par sa richesse en 1,8-cinéole (14,04%), eugénol (7,7%), eugénate de méthyle (3,68%), α-terpinolène (3,45%), α-terpinéol (3,05%), б-terpinène (3,2%), limonène (2,94%), β-pinène (2,8%) et linalol (2,07%).

Par contre la composition de l'extrait a subi un changement de chémotype, en passant d'un chémotype α-pinène/1,8-cinéole pour les huiles essentielles à un chémotype 1,8-cinéole /eugénol pour l'extrait issu par CO_2 supercritique. Les principaux composés d'extrait de CO_2 supercritique aux conditions opératoires optimales du rendement sont le 1,8-cinéole (27,22%), l'eugénol (9,23%), l'α-pinène (8,90%), le β-caryophyllène (8,6%), le methyl eugénol (6,3%).

En tenant compte des sommes de composés identifiés, il en découle que la principale variation notée est l'augmentation des monoterpènes oxygénés pour l'extrait par CO_2 supercritique, cette variation est très nette en regardant le tableau 23, où les pourcentages des monoterpènes passent de 13% et 22 % et le pourcentage des monoterpènes hydrocarbonés a subi une diminution très nette en passant d'un pourcentage de 60 % à un pourcentage de 30%. On note aussi un enrichissement en sesquiterpènes et en sesquiterpènes oxygénés particulièrement tel a été le cas de nombreuses études comparatives tels que le thym, la lavande, la sarriette et la menthe poivrée [115]. Nous pouvons conclure que les extraits obtenus par CO_2 supercritique se distinguent par une prédominance des composés lourds par rapport à l'huile essentielle, une faible teneur des composés légers, ce fait est probablement dû aux grandes teneurs des composés lourds qui réduisent les proportions des légers. En fait, les composés légers sont solubles dans le CO_2 supercritique [116].

Or le moyen de piégeage et de récupération des composés volatils lors de l'extraction par CO_2 supercritique permet d'obtenir un rendement plus élevé que celui de l'hydrodistillation, fait qui pourrait induire une récupération plus importante des composés lourds et une détection de teneurs à l'état de trace des composés légers. La composition chimique particulière des extraits volatils pourrait être induite par la particularité des propriétés d'extraction par CO_2 supercritique notamment la température relativement basse (40°C) comparativement à l'hydrodistillation (100°C) pouvant causer la dégradation de certains composés, et la non-immersion de la matière végétale dans l'eau pouvant induire des réactions d'hydrolyse pour l'hydrodistillation [117-118].

Tableau 23 : Composition de l'huile essentielle des fleurs de myrte et d'extrait de CO_2

Composé	Temps de rétention (min)	Indice de Kovats	Huile essentielle %	Extrait (conditions optimales) CO_2 (%)	Identification
α-thujène	4,98	700,80	1,12	0,30	CG-SM
α-pinène	5,20	900,19	**42,53**	**8,90**	SM, Co-CG
Sabinène	6,61	900,31	0,10	-	CG-SM
β-pinène	6,75	900,90	**2,80**	1,20	CG-SM
α-terpinène	6,88	1018,00	0,71	-	CG-SM
o-cymène	7,09	1000,05	1,68	-	CG-SM
Limonène	7,20	1000,10	**2,94**	8,70	SM, Co-CG
1,8-cinéole	7,30	1000,13	**14,04**	**27,22**	SM, Co-CG
E-β-ocimène	7,57	1000,24	0,12	-	CG-SM
б-terpinène	7,90	1000,40	**3,20**	7,80	CG-SM
α-terpinolène	8,67	1000,70	**3,45**	1,10	CG-SM
Linalol	8,90	1000,77	**2,07**	**4,22**	SM, Co-CG
Bornéol	10,74	1100,48	0,13	-	CG-SM
terpinène-4-ol	11,02	1100,58	0,36	0,02	CG-SM
α-terpinéol	11,39	1100,72	**3,05**	2,30	SM, Co-CG
Myrténol	11,68	1100,83	0,04	0,10	CG-SM
Nérol	11,82	1100,90	0,05	-	CG-SM
Z-carvéol	12,12	1101,00	0,10	0,20	CG-SM
acétate de linalyle	12,99	1201,00	1,08	0,60	CG-SM
acétate de bornyle	13,89	1202,00	0,04	-	CG-SM
acétate de terpenyle	15,52	1302,50	1,21	0,60	CG-SM
Eugénol	15,84	1303,00	**7,71**	**9,23**	CG-SM
nerylacétate	16,33	1303,30	1,67	-	CG-SM
méthyl eugénol	16,93	1304,00	**3,68**	**6,30**	CG-SM
β-caryophyllène	17,43	1403,40	1,31	**8,60**	SM, Co-CG
β-humulène	20,79	1505,80	0,69	0,10	CG-SM
oxyde de caryophyllène	21,41	1506,40	0,46	-	SM, Co-CG
1,2-époxyde humulène	22,02	1606.00	0,11	-	CG-SM
éther eugénol méthyle	22,30	1606,30	0,79	-	CG-SM
Total			97,24	87,49	
hydrocarbonés			13.00	22.00	
Monoterpèneoxygénés			3.00	9.00	
Sesquiterpèneshydrocarbonés			2,50	5,00	
Sesquiterpènesoxygénés					

Au cours de cette étude, on a montré la possibilité d'augmenter le rendement d'extraction des fleurs de Myrte par CO_2 supercritique en changeant les conditions opératoires jusqu'à l'obtention d'un rendement supérieur est égale à 1,37%. La modification du plan d'expérience de Doehlert nous a permis d'obtenir un plan D-optimal avec une D-efficacité proche de 100%, et nous avons pu trouver une solution en modifiant le plan existant dans la littérature par le biais des algorithmes d'échange Detmax-Fedrov sans refaire les expériences à nouveau.

Contrairement aux huiles essentielles, l'extrait de Myrte présente des teneurs importantes en eugénol et eugénate de méthyle. Ces deux composés appartenant à la classe des benzoïdes sont très recherchés comme molécules bioactives vu leurs hautes activités antioxydantes.

L'étude dans le paragraphe suivant va nous permettre de comparer l'activité antioydante de l'huile essentielle et de l'extrait pour bien appuyer l'effet de ces deux composés sur l'activité antioxydante.

I.3.2. Activité Antioxydante

L'huile essentielle des fleurs de myrte ainsi que l'extrait par CO_2 supercritique dans les conditions optimales trouvées précédents ont été soumis au test de DPPH afin d'évaluer l'activité antioxydante, le résultat de ce test pour différentes concentrations a permis le tracé des courbes de la figure 34 et de la figure 35, ce qui nous a donné la concentration d'inhibition à 50% (CI_{50}).

Par projection sur la courbe on a trouvé que CI_{50} est égale à 0,8 mg/ml, d'où on peut dire que la capacité d'inhibition des radicaux libres de l'huile essentielle est moyennement bonne.

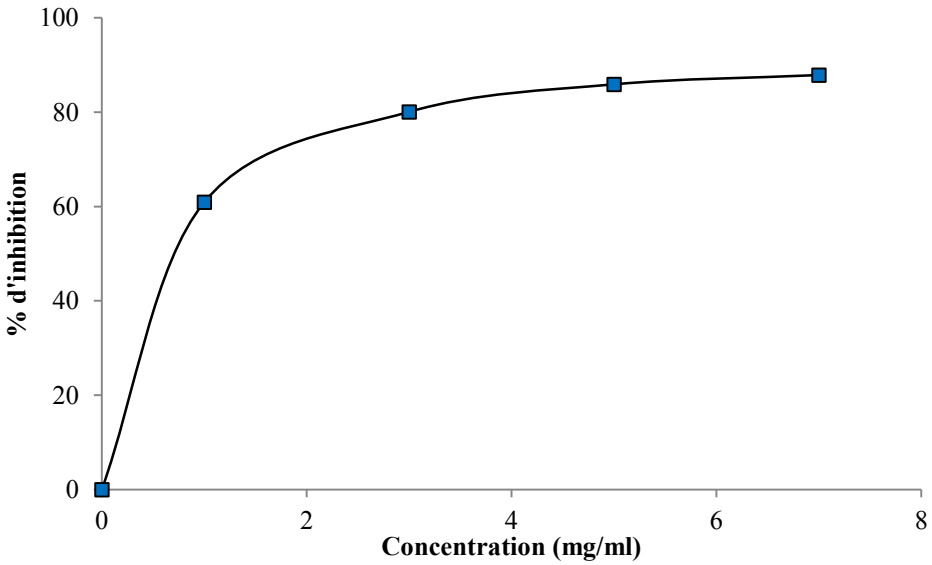


Figure 34. Activité antioxydante de l'huile essentielle de myrte

Dans le cas de l'extrait par CO_2 supercritique et par projection sur la courbe on a trouvé que CI_{50} est égale à 30 µg/ml, donc d'où on peut dire que l'activité de l'extrait est beaucoup plus importante que celle de l'huile essentielle puisqu'il réagit à une concentration très faible avec les radicaux libres. Nous pouvons expliquer ce pouvoir par l'existence des composés

phénoliques tels que l'eugénol et l'eugénate de méthyle ainsi que l'existence des sesquiterpènes comme le β-caryophyllène. Cette concentration est proche de l'antioxydant commercial utilisé comme référence le BHT (hydroxytoluène butyle) ayant une CI_{50} égale à 23 µg/ml. Ce résultat prouve bien que l'extrait des fleurs de myrte peut jouer le rôle d'un antioxydant naturel qui remplace un autre commercial sans perdre la qualité d'antioxydant.

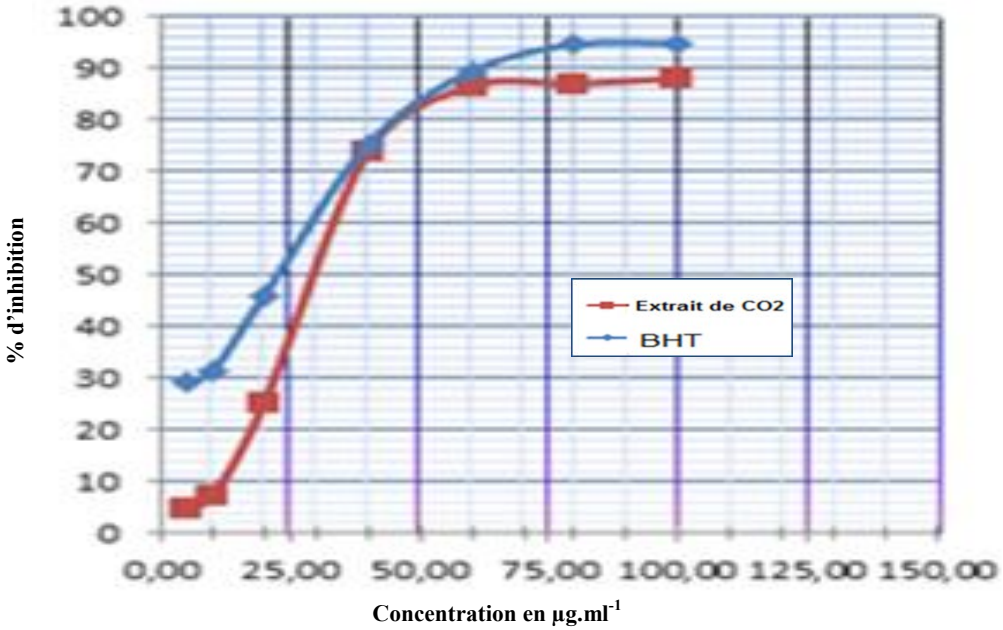


Figure 35. Activité antioxydante de l'extrait par CO_2 et de BHT

I.5. Conclusion

L'optimisation des conditions d'extraction des fleurs de myrte avec le plan de Doehlert existant dans la littérature n'a pas abouti à une bonne modélisation. Par le biais des algorithmes d'échanges appliqués à ce plan, nous avons pu donner la possibilité d'ajouter des points expérimentaux en suivants des règles mathématiques pour bien exploiter notre espace expérimental.

Nous pouvons conclure que l'extrait par CO_2 supercritique est le meilleur en termes de rendement et aussi en termes d'activité antioxydante. Le développement de cette technologie se trouve confronter au coût d'extraction et au prix élevé d'un tel procédé. Cette contrainte peut être évitée en faisant l'étude du coût d'extraction et en cherchant un produit avec un rapport qualité prix bien acceptable par rapport aux autres méthodes conventionnelles.

II. Etude de *Pistacia Lentiscus*

II.1. Introduction

La récupération de certains de ces ingrédients actifs est de très faible rendement, avec une forte valeur ajoutée, peut être critique pour le processus de mise en œuvre.

Ainsi, il est important de déterminer les conditions opératoires optimales pour l'extraction et la récupération de ces extraits pour optimiser les performances et réduire le coût de fabrication. Le nombre des paramètres expérimentaux est très important, nous avons dû fixer certains

paramètres tels que la pression et la température des séparateurs, la quantité du matériel végétal. L'effet de la masse volumique du CO_2 (X_1), de la taille des particules (X_2), du temps de contact (X_4) et du débit de CO_2 (X_4), a été étudié en utilisant un plan composite central (Partie B, § V.1) afin de déterminer les conditions optimales pour récupérer le maximum d'extrait (Y_1) avec une bonne activité antioxydante (Y_2). Puis nous proposons d'évaluer le coût d'extraction pour un meilleur rapport qualité prix d'extrait

II.2. Optimisation du rendement d'extraction et de l'activité antioxydante

II.2.1. Etablissement des deux modèles

La matrice de calcul est une matrice de (29,15) puisqu'il y a 29 essais et 15 coefficients pour chaque modèle postulé. Les résultats des essais sont obtenus via le logiciel de calcul statistique Nemrodw. Les conditions opératoires ainsi que les deux réponses sont regroupées dans le tableau 24.

Tableau 24 : Matrice d'Expériences

Experience	X_1	X_2	X_3	X_4	Y_1 (%)	Y_2
1	-1	-1	-1	-1	0,70	0,510
2	1	-1	-1	-1	1,19	0.442
3	-1	1	-1	-1	0,25	0,291
4	1	1	-1	-1	0,47	0,236
5	-1	-1	1	-1	0,88	0,322
6	1	-1	1	-1	1,30	0,195
7	-1	1	1	-1	0,90	1,265
8	1	1	1	-1	1,16	1,290
9	-1	-1	-1	1	0,72	2,002
10	1	-1	-1	1	1,30	1,845
11	-1	1	-1	1	0,53	0,875
12	1	1	-1	1	0,89	0,573
13	-1	-1	1	1	0,63	1,102
14	1	-1	1	1	1,27	0,614
15	-1	1	1	1	0,83	0,720
16	1	1	1	1	1,18	0,369
17	-1	0	0	0	0,66	1,040
18	1	0	0	0	1,10	0,142
19	0	-1	0	0	0,82	0,115
20	0	1	0	0	0,60	0,011
21	0	0	-1	0	0,61	0,713
22	0	0	1	0	0,87	0,771
23	0	0	0	-1	0,55	1,112
24	0	0	0	1	0,56	1,472
25	0	0	0	0	0,66	0,667
26	0	0	0	0	0,80	0,790
27	0	0	0	0	0,62	0,614
28	0	0	0	0	0,82	0,720
29	0	0	0	0	0,82	0,666

En pratique, on suppose que les interactions d'ordre supérieur ou égal à trois sont négligeables. En effet, ces interactions sont très fréquemment non significatives dans l'analyse de la variance et peuvent difficilement être interprétées par l'expérimentateur. Les coefficients de ce modèle quadratique sont calculés à l'aide d'un calcul matriciel en utilisant un logiciel appelé NEMRODW (PRAI S.A.R.L. N° SIRET : 352 056 634 00012 - Code APE : 7703) et la validité du modèle polynomial va être par la suite étudiée au moyen du même logiciel.

La caractéristique du problème étudié est illustrée dans le tableau 25.

Tableau 25 : Caractéristiques du problème

Objectif de l'étude	Etude dans un domaine expérimental : Surface de Réponses
Nombre de variables	4
Nombre d'expériences (N)	29
Nombre de coefficients (p)	15
Nombre de réponses	2

II.2.2. Analyse globale des modèles :

L'analyse du tableau de régression nous permet d'établir le coefficient de détermination R^2, ce coefficient traduit la contribution du modèle dans la restitution de la variation de la réponse observée. Par définition, R² appartient à l'intervalle [0-1] :

$$R^2 = 1 - \left(\frac{SCE}{SCT}\right) \quad (eq74)$$

Avec

SCE : Somme des carrées aux écarts,

SCT : somme des carrées totale.

Suite à la présence de plusieurs variables explicatives, il faut impérativement éviter d'utiliser le coefficient de détermination R^2 pour estimer la qualité descriptive du modèle. Il faut recourir à l'utilisation du coefficient de détermination ajusté R^2 ajusté :

$$R^2 ajusté = 1 - \frac{\frac{SCE}{N-P}}{\frac{SCT}{N-1}} \quad (eq75)$$

Avec N, le nombre d'expériences et p le nombre des coefficients à estimer dans le modèle. Plus les valeurs de R^2 et R^2 ajustées sont proches de 100%, plus la qualité descriptive du modèle est satisfaisante. Un autre coefficient permet de décrire la capacité prédictive du modèle, appelé R^2pred donné par la formule suivante :

$$R^2\ pred = 1 - \left(\frac{PRESS}{SCT}\right) \quad (eq76)$$

Avec

PRESS: Prediction Error Sum of Square

La valeur de R^2pred est toujours comprise entre 0 et 1, plus cette valeur est proche de 1, plus la capacité prédictive du modèle est bonne.

D'après les résultats du test statistique et qui sont illustrés dans le tableau 26, on peut dire que les deux modèles pour les deux réponses présentent une qualité descriptive satisfaisante puisque les valeurs de R^2 (0,969 et 0,953respectivement pour Y_1 et Y_2) et R^2ajusté (0,939 et 0,907 respectivement pour Y1 et Y_2) sont proches de 1.

Quant à R^2_{pred}, on peut constater que la capacité prédictive pour les deux modèles est acceptable avec une capacité prédictive meilleur du modèle du rendement avec R^2_{pred}=0,913 et pour le modèle de l'activité R^2_{pred}=0,772.

Tableau 26 : Analyse de la régression

	Y_1 (Rendement)	**Y_2 (activité antioxyadante normalisée)**
Ecart type	0,0671	0,06667
R^2	0,969	0,953
R^2_{Adj}	0,939	0,907
R^2_{Pred}	0,913	0,772

Avec

$$\text{Activité Antioxy.Normalisée} = \frac{\textit{activité}\ \text{antioxydante d'un extrait de concentration C}}{\textit{activité}\ \text{antioxydante de BHT à une concentration C}}$$

II.2.3. Analyse statistique des coefficients

On vise par cette analyse, à savoir s'il existe des coefficients qui ne sont pas influents, c'est-à-dire qui ne présentent aucun effet sur chacune des deux réponses. S'il existe un ou plusieurs coefficients non influents sur toutes les réponses, nous pouvons l'écarter du modèle mathématique afin de le simplifier et d'améliorer sa qualité.

Les valeurs estimées des coefficients des deux modèles ainsi que leur signification sont regroupées dans le tableau 32. Nous pouvons constater que pour le modèle 2 (activité antioxydante) les coefficients β_{11}, β_{33}, β_{12} et β_{13} qui correspondent respectivement à l'effet quadratique de la masse volumique, de l'effet quadratique du débit de CO_2, de l'interaction masse volumique de CO_2/granulométrie et de l'interaction masse volumique/ débit de CO_2, ne sont pas influents sur la réponse puisque la valeur de la significativité pour ces coefficients est supérieure à 5%.

Les coefficients β_4, β_{22}, β_{33}, β_{13} et β_{14} qui correspondent respectivement à l'effet linéaire du temps statique, l'effet quadratique de la granulométrie, l'interaction masse volumique /débit et l'interaction masse volumique /débit ne sont pas significatifs pour une marge d'erreur de 5% pour la réponse N°1 (Tableau 27).

Tableau 27 : Estimations et statistiques des coefficients

	Y_2		Y_1	
	Coefficient	*P*-value	Coefficient	*P*-value
β_0	0,66390	***	0,7075	***
β_1	-0,13450	**	0,2087	***
β_2	-0,08428	**	-0,1113	***
β_3	-0,04661	*	0,1308	***
β_4	0,21717	***	0,0283	9,2%
β_{11}	-0,05002	29,5%	0,2030	***
β_{22}	-0,57802	***	0,0330	44,8%
β_{33}	0,10098	7,1%	0,0620	15,7%
β_{44}	0,65098	***	-0,1220	*
β_{12}	0,00981	59,1%	-0,0590	**
β_{13}	-0,02244	24,9%	0,0010	95,2%
β_{23}	0,26469	***	0,1097	***
β_{14}	-0,06706	*	0,0338	6,2%
β_{24}	-0,28994	***	0,0500	**
β_{34}	-0,25519	***	-0,0725	***

Après avoir écarté les coefficients non influents, les équations des deux modèles prennent la forme suivante :

$$Y_1 = 0,7075 + 0,2087X_1 - 0,1113X_2 + 0,1308X_3 + 0,203X_1^2 - 0,122X_4^2 - 0,059X_1X_2 + 0,1097X_2X_3 + 0,05X_2X_4 - 0,0725X_3X_4 \quad \text{(eq76)}$$

$$Y_2 = 0,66390 - 0,1345X_1 - 0,08428X_2 - 0,04661X_3 + 0,21717X_4 - 0,57802X_2^2 + 0,65098X_4^2 - 0,06706X_1X_4 + 0,26469X_2X_3 - 0,28994X_2X_4 - 0,25519X_3X_4 \quad \text{(eq77)}$$

Le domaine expérimental étant défini à partir de la variation de quatre facteurs, il est difficile de restituer de façon simple la variation de réponse. Nous avons donc fait appel, à l'un de principales caractéristiques du plan d'expérience, c'est la possibilité de représenter les résultats sous forme graphique. Ces graphiques à titre explicatif, sont des coupes et des projections qui consistent à fixer un niveau donné à certains facteurs.

Pour la construction de ce graphique, nous utiliserons le logiciel NEMRODW. L'analyse graphique du modèle consiste essentiellement à restituer l'équation de ce dernier sous la forme

des courbes d'iso-réponses. En fait, l'étude de l'influence des conditions opératoires sur les réponses est obtenue en représentant la variation des facteurs 2 à deux, en gardant à chaque fois les 2 autres au niveau zéro qui correspond au centre du domaine de chaque facteur.

II.2.4. Interprétation des courbes d'iso-réponses

Les courbes des iso-réponses sont reportées sur les figures 36 à 41. D'après les figures 36 et 37, nous constatons que la masse volumique a un effet positif sur le rendement par contre elle a un effet négatif sur l'activité antioxydante, cela peut être expliqué par le fait que l'activité antioxydante pour notre cas et dans nos conditions opératoires est liée aux composés de petites masses volumiques.

Plusieurs travaux ont montré que l'activité antioxydante croit avec la pression mais pour des pressions très élevées à l'ordre de 400 bars, où l'activité antioxydante est attribuée aux composés phénoliques à grand pouvoir antioxydant. Les travaux de Congiu et al. [37] qui portent sur l'extraction de *Pistacia* avec CO_2 supercritique, appuie notre supposition : ils ont montré qu'à 90 bars ils ont recueilli seulement des huiles essentielles dont leur composition était proche de celle de la composition des huiles essentielles issue de l'hydrodistillation [37].

L'effet de la granulométrie sur les deux réponses est évaluée à partir des courbes 36 et 37, nous remarquons bien que pour avoir un rendement meilleur, il est intéressant de travailler avec des particules de petite taille (220 µm), cela peut être expliqué par le fait d'avoir des petites particules va créer plus de volume interstitiel et le fluide aura moins de résistance lors de son déplacement, à cet effet il donne lieu à un bon transfert de matière qui influence positivement la quantité d'extrait produite.

Par contre pour avoir une bonne activité antioxydante nous devons manipuler avec des particules de tailles moyennes (435µm).

D'après les courbes 38 et 39, nous remarquons que le rendement augmente en fonction du débit de CO_2 et qu'il n'a pas de grande influence sur l'activité antioxydante.

Les courbes 39 et 40 ne montrent aucune influence du temps statique sur le rendement global de l'extraction, mais par contre il a une grande influence positive sur l'activité antioxydante, ce phénomène peut être expliqué par le fait que les composés que nous avons estimés de masses molaires faibles, nécessitent plus du temps en état statique pour établir un équilibre avec le solvant ou bien que leur diffusion soit lente par rapport à l'ensemble des composés.

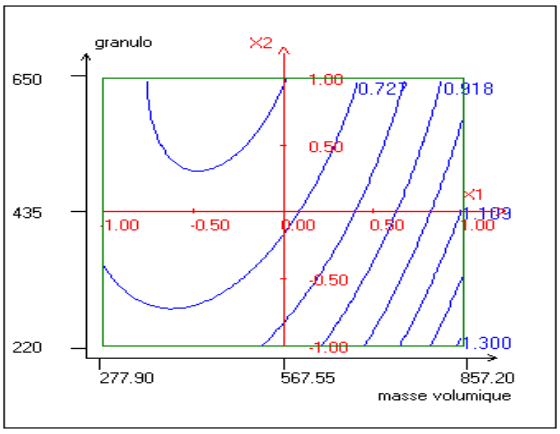


Figure 36. Courbe d'isoréponse : granulométrie (X_2, µm) en fonction de la masse volumique (X_1, kg.m^{-3}) pour le rendement Y_1

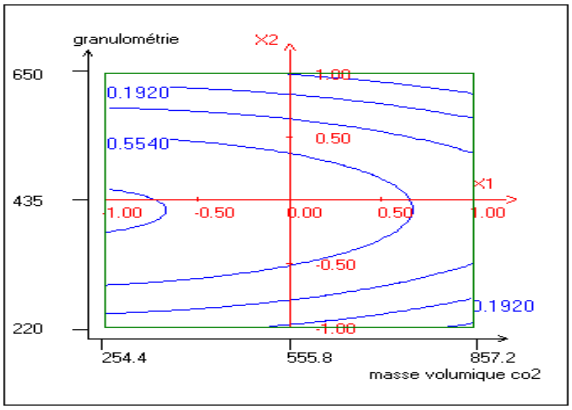


Figure 37. Courbe d'isoréponse : granulométrie (X_2, µm) en fonction de la masse volumique (X_1, kg.m^{-3}) pour le rendement Y_2

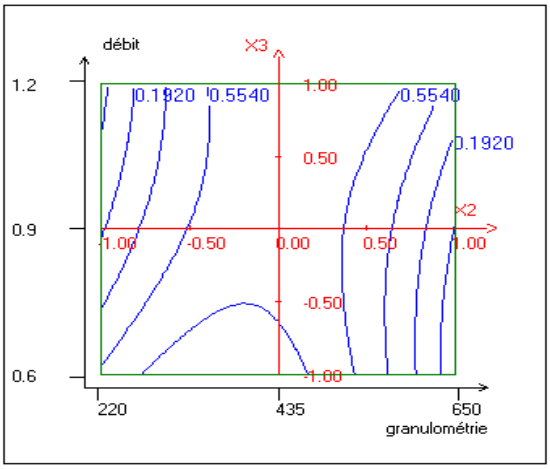


Figure 38. Courbe d'isoréponse : débit de CO_2 (X_3, kg.h^{-1}) en fonction de la granulométrie (X_2, µm) pour le rendement Y_1

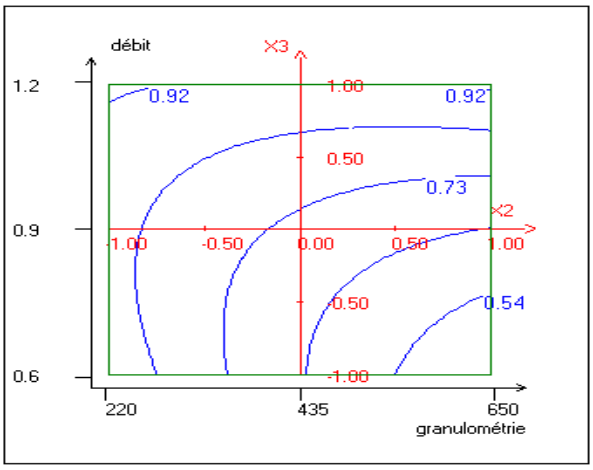


Figure 39. Courbe d'isoréponse : débit de CO_2 (X_3, kg.h^{-1}) en fonction de la granulométrie (X_2, µm) pour le rendement Y_2

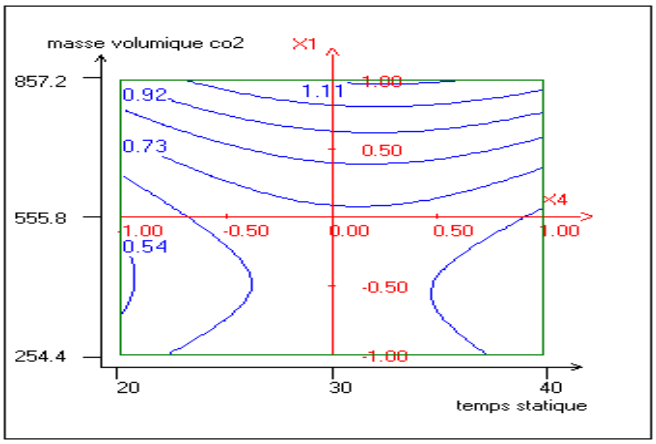


Figure 40. Courbe d'isoréponse : la masse volumique (X_1, kg.m^{-3}) en fonction du temps statique (X_4,, min) pour le rendement Y_1

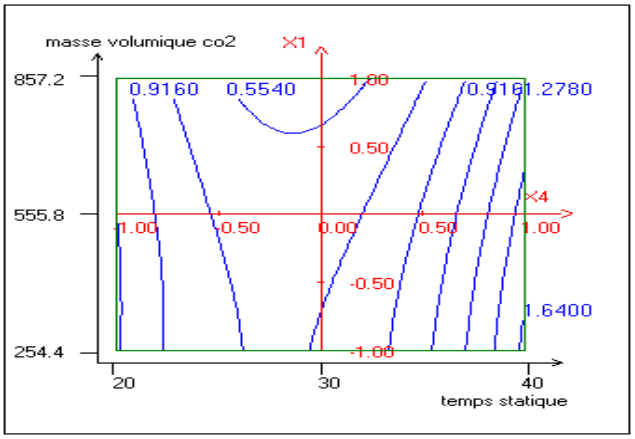


Figure 41. Courbe d'isoréponse : la masse volumique (X_1, kg.m^{-3}) en fonction du temps statique (X_4,, min) pour le rendement Y_2

D'après cette analyse de l'optimisation des deux réponses simultanément, nous remarquons bien que les conditions optimales ne se croisent pas, pour avoir un bon rendement il faut travailler avec une grande masse volumique de CO_2, à haut débit, avec une petite taille des particules alors que pour avoir un bon pourvoir antioxydant il faut travailler à basse pression, avec un débit moyen de 0,9kg/h, un temps statique important et des particules de moyenne taille. Pour résoudre ce problème, nous chercherons à déterminer l'optimal qui nous donne un produit rentable de point de vue rendement avec une bonne activité antioxydante.

II.2.5. Recherche de l'optimum global pour les deux réponses

Il s'agit ici de trouver une méthode de recherche d'un compromis entre les différents facteurs pour obtenir les valeurs des réponses souhaitées. L'utilisation du modèle pour la recherche d'une solution nécessite une transformation des réponses afin de les rendre comparables.

La recherche d'un optimum multicritère se fait en deux phases :

• transformation de chacune des réponses en une fonction de désirabilité individuelle dont

la nature dépend des objectifs de l'étude,

• recherche du niveau des facteurs qui permet d'atteindre le maximum de la fonction de

Désirabilité globale.

Les résultats regroupés dans les tableaux 28 et 29, nous informe sur l'optimum global pour les deux réponses, alors avec une masse volumique de CO_2 de 377,6 $kg.m^{-3}$, une taille des particules de 461µm, un débit de CO_2=1,2 $kg.h^{-1}$ et avec un temps statique de 36 minutes, nous pouvons avoir un rendement de 0,78 % avec une activité antioxydante de l'ordre de 1,009. Ce point représente le point des coordonnées optimales avec lesquelles nous pouvons avoir un produit rentable et de qualité souhaitée en termes d'activité antioxydante.

Tableau 28 : Caractéristiques du maximum de l'optimum global

Réponse	Nom	Valeur	d (i) %	Poids	di min %	di max %
Y_1	**Rendement**	0,780	99,98	1	87,12	99,98
Y_2	**Activité**	1,0091	99,91	1	93,24	99,91
	Désirabilité		99,94		90,13	99,94

Tableau 29 : Coordonnées de l'optimum global

Variable	Valeur codée	Facteur	Valeur
X1	-0,723894	$kg.m^{-3}$	337,6
X2	0,20085	µm	461
X3	0,968231	$kg.h^{-1}$	1,2
X4	0,563100	Minutes	36

Pour mettre en valeur cette étude, nous réaliserons l'étude du coût de fabrication pour les trois conditions optimales : conditions optimales du rendement, conditions optimales d'activité antioxydante et enfin pour les conditions optimales globales.

II.3. Evaluation économique de l'extrait de Pistacia à différentes conditions

Dans cette partie nous déterminons le coût de fabrication d'extrait de *Pistacia* pour les 3 différentes conditions optimales (rendement, activité antioxydante et pour l'optimal global des deux réponses à la fois) et à des différentes installations industrielles allant de 5 L. jusqu'à 1000 L. de capacité d'extracteur.

Le coût de fabrication en extraction supercritique est estimé par la méthode proposée par P.T.V. Rosa et al. [119] et évaluée par Turton et al. [120] selon l'expression suivante :

$$COM_{se} = 0{,}280.F_{CI} + 2{,}73.C_{OL} + 1{,}23.(C_{UT} + C_{WT} + C_{RM}) \qquad \text{(eq78)}$$

Avec

COM_{se} : Coût d'extraction supercritique

F_{CI} : Coût fixe d'investissement

C_{OL} : Coût de la main d'œuvre opérationnelle

C_{UT} : Coût des services publics

C_{WT} : Coût de traitement des déchets

C_{RM} : Coût de la matière première

Afin de déterminer le débit de solvant et la quantité de la matière végétale nécessaires pour maintenir le même comportement cinétique dans différentes unités EFS (grande échelle) en passant d'une petite échelle du laboratoire nous utilisons pour le calcul, l'équation proposée Carvalho et al. [121]:

$$\frac{Q_{CO_2}1}{Q_{CO_2}2} = \left(\frac{F_2}{F_1}\right)^2 . \frac{H_1}{H_2} . \left(\frac{d_1}{d_2}\right)^3 \qquad \text{(eq79)}$$

Par conséquent nous avons considéré le H/d = 13 rapports, basé sur l'unité du laboratoire et pour un débit d'écoulement de 3,34 10^{-4} kg. s^{-1}. Ainsi, les débits calculés (Q_{CO2}) sont pour les unités, à différentes échelles avec leurs quantités respectives de matière première par lot (F) nécessaires, l'ensemble des résultats sont portés dans le tableau 30.

Nous remarquons que chaque unité exige une quantité différente de matière première et par conséquent un flux de CO_2 nécessaire pour conserver les mêmes performances cinétiques pendant l'extraction.

Tableau 30: Détermination du débit de solvant et de la quantité de la matière première à différentes capacité d'extracteur (H/d=13)

Volume de l'extracteur		Quant. Matière végétale	H	d	Volume Calculé	F	Q_{CO2}	
[litres]	[m^3]	[kg/an]	[m]	[m]	[litres]	[kg]	[kg/s]	[kg/h]
5	0,005	5 189	1,04	0,080	5,2	2,06	$4{,}02.10^{-3}$	14,46
50	0,05	51 892	2,21	0,170	50,2	19,72	$1{,}81.10^{-2}$	65,27
100	0,1	103 785	2,80	0,215	101,5	39,89	$2{,}90.10^{-2}$	104,40
200	0,2	207 569	3,51	0,270	201,0	79,00	$4{,}57.10^{-2}$	164,65
300	0,3	311 354	4,02	0,309	301,2	118,42	$5{,}99.10^{-2}$	215,65
400	0,4	415 139	4,42	0,340	401,3	157,76	$7{,}25.10^{-2}$	261,10
500	0,5	518 923	4,76	0,366	500,6	196,79	$8{,}40.10^{-2}$	302,55
1000	1	1 037 847	5,99	0,461	1000,3	393,25	$1{,}33.10^{-1}$	480,00

Après l'estimation du débit nécessaire et de la quantité de la matière végétale à utiliser pour garantir un comportement cinétique similaire pour tous les volumes d'extracteur, nous allons estimer le coût du travail de la main d'œuvre en fonction du salaire minimum national en Tunisie (2012) et leur impôt respectif d'être versé par l'employeur. Deux employés effectuent un quart du travail, pour trois équipes par jour (au total un fonctionnement de 24 h) pendant une période de 330 jours. L'estimation moyenne du coût du travail pour la main d'œuvre est de 1,94 $/ h par personne, ainsi 7920 heures du travail annuelle pour un coût d'exploitation annuel total de 30729,60 $/ans. [121-122-123-124].

Dans le procédé d'extraction supercritique d'une matrice végétale le seul déchet produit est la matrice végétale utilisée. Cette matrice végétale peut être réintégrée dans le sol comme engrais (Matériel sec organique), utilisée comme source de production de l'énergie pour les chaudières à combustion ou la réutilisation dans un autre processus. Pour cette raison le coût du traitement des déchets n'a pas été pris en compte dans l'estimation du coût de fabrication de l'extrait, car il ne s'agit pas d'un résidu, mais plus tôt d'un sous-produit. Le coût des services publics dans l'unité d'extraction supercritique de *Pistacia* étaient considérés comme des dépenses d'énergie pour l'eau de chauffage des échangeurs de chaleur utilisés pour élever la température du CO_2 et pour le réservoir de détente équipé d'un compresseur pour le refroidissement du CO_2 et du système de pompage. Le coût de l'électricité pour la Tunisie est de 140 $/MWh (Société Tunisienne d'Electricité et du Gaz (2014). Le point de départ du processus est le pompage du CO_2 à partir d'un cylindre ou d'un réservoir de stockage, après avoir traversé un système de refroidissement (CO_2 liquide), il passe dans la pompe pour mettre le CO_2 à la pression d'extraction souhaitée (80 bar ; 84 bar et 200 bar) et pour des rendements qui correspondent respectivement à 1,27 % ; 0,7% et 0,78%.

Puis, il est nécessaire d'augmenter la température jusqu'à la température du milieu d'extraction à 40°C. Dans les séparateurs nous avons une chute de pression moyenne sur 50 bars et 40°C du gaz d'extraction (CO_2) afin de séparer l'extrait et le CO_2. Par la suite le solvant doit être condensé et stocké jusqu'à son utilisation à nouveau. Les pertes en CO_2 dans ce processus sont estimées à 2 % dans toutes les étapes de calcul [119-125].

Le coût de fonctionnement pour la présente affaire concerne le coût de cette unité d'extraction en énergie dans un cycle de fonctionnement. Le coût a été estimé et présenté dans le tableau 31 [122-126].

Tableau 31 : Coût de fonctionnement pour les unités d'extraction à différentes Pressions

Volume d'extracteur	**QCO_2**	**C_{UT} pour une pression de 80 bars**	**C_{UT} pour une pression de 84 bars**	**C_{UT} pour une pression de 200 bars**
Litres	**($kg.h^{-1}$)**	**($/an)**	**($/an)**	**($/an)**
5	14 ,5	1044	1120	1273
50	65,3	4713	5058	5747
100	104,4	7538	8090	9193
200	164,7	11888	12758	14498
300	215,7	15570	16710	18988
400	261,1	18851	20231	22989
500	302,6	21845	23443	26640
1000	480.0	34657	37192	42264

L'estimation du coût de la matière première pour les différentes unités supercritiques est représentée dans le tableau 32, en considérant une perte de 2% au cours de processus et que le prix d'un kilogramme de la matière végétale vaut 3,94 $ (feuilles de *Pistacia* Tunisienne). Nous notons bien que le coût de la matière première comprend aussi le coût du transport et du stockage de la matière végétale. Dans le tableau 32, les résultats de l'estimation du coût de la matière première sont représentés en fonction de la capacité d'extracteur utilisé.

Tableau 32 : Coût de la matière première annuelle avec une perte de 2 %

Volume D'extracteur [Litres]	**QCO_2 [kg/h]**	**CLC (perte 2%) [$/an]**	**F [kg]**	**F*(perte2%) [kg/an]**	**C_{RM} [$/an]**
5	14,46	343	2,06	5 425,46	21 396
50	65,27	1 551	19,72	52 061,08	205 311
100	104,40	2 481	39,89	105 312,96	415 319
200	164,65	3 912	79,00	208 572,83	822 541
300	215,65	5 124	118,42	312 638,08	1 232 939
400	261,10	6 204	157,76	416 488,66	1 642 490
500	302,55	7 189	196,79	519 528,87	2 048 846
1000	480,00	11 405	393,25	1 038 171,75	4 094 198

Pendant le cycle de l'extraction, le CO_2 est recyclé après chaque opération d'extraction, nous prenons en compte son utilisation multiple et nous considérons un taux de 2 % de perte de CO_2. Dans le tableau 38 nous représentons le coût de perte de CO_2 à différents débits et pour différentes installations supercritiques.

Tableau 33 : Coût annuel de la perte en CO_2

Volume d'extracteur	QCO_2	CLC =coût de perte (2%)
[litres]	[kg/h]	[$/an]
5	14,46	343
50	65,27	1 551
100	104,40	2 481
200	164,65	3 912
300	215,65	5 124
400	261,10	6 204
500	302,55	7 189
1000	480,00	11 405

Selon Shariati-Nassar et al [127] le coût direct de l'extraction supercritique dans une unité couvre environ 30% à 70% des dépenses de la production, où ces coûts sont directement proportionnels au coût des matières premières (C_{RM}), de la main d'œuvre (U_T) et du fonctionnement (U_{OT}).

L'estimation du coût de fabrication d'extrait avec le CO_2 supercritique est divisée en coût directe et coût indirecte (coût fixe et coût général), dans le tableau 34 nous calculerons le coût direct du produit D_C qui est la somme du coût de l'électricité, du coût de la main d'œuvre et du coût de la matière première. $D_C = \mathbf{C_{RM} + U_{UT} + C_{OL}}$ (eq80)

Tableau 34 : Coût direct du produit

Volume d'extracteur	Matière première	C_{RM}	F*	DC (80bars)	DC (84bars)	DC (200bars)
Litres	[kg/an]	[$/an]	[kg/an]	[$/an]	[$/an]	[$/an]
5	5 425	21396,17	5425,46	84849	84925	84873
50	52 061	205311,31	52 061,08	272433	272 778	277676
100	105 313	415318,71	105312,96	485266	485 817	493652
200	208 573	822540,72	208572,83	896838	897 708	910063
300	312 638	1232938,90	312638,08	1310918	1312 058	1 328240
400	416 489	1642490,50	416488,66	1723751	1725 130	1 744722
500	519 529	2048846,26	519528,87	2133100	2134 698	2 157401
1000	1 038 172	409498,47	1038171,75	4191264	4193 800	4 229818

Le coût des unités d'extraction supercritique utilisées pour cette analyse sont celles adaptées par Prado [126] et représenté dans le tableau 35. La production annuelle ne dépend pas que de coûts directs, comme indiqué dans le tableau 34. Mais d'autres coûts doivent être liés comme les frais généraux, de vente, de marketing, de recherche et de développement, ainsi que les frais administratifs, conduisant à un montant approximatif de 5% de l'investissement total (FCI) , les coûts fixes est de l'ordre de 14 % de FCI , en total le coût totalisant 19% de l'investissement fixe initial [128-131].

Tableau 35 : Coût fixe et coût général

		P=80 Bars		**P=84 Bars**		**200Bars**	
		0,70%		**0.78%**		**1.27%**	
Volume D'extracteur	**F***	**E**	**COM**	**E**	**COM**	**E**	**COM**
[Litres]	**[kg/an]**	**[kg d'extrait/an]**	**[$/kg]**	**[kg d'extrait/an]**	**[$/kg]**	**[kg d'extrait/an]**	**[$/kg]**
5	5425,4	38	2400,6	42,3	2156,2	68,9	1323,5
50	52061,1	364,4	911,2	406,1	827,7	661,2	515,7
100	105312,9	737,2	799,8	821,4	726,3	1337,5	451,95
200	208572,8	1460,0	731,5	1626,9	663,7	2648,9	412,3
300	312638,1	2188,5	708,1	2438,6	641,9	3970,5	398,3
400	416488,7	2915,4	688,3	3248,6	623,6	5289,4	386,7
500	519528,9	3636,7	676,6	4052,3	612,7	6598,0	379,8
1000	1038171,7	7267,2	646,2	8097,7	584,4	13184,8	361,6

Tableau 36: Estimation du Coût d'un kg d'extrait de Pistacia en Tunisie

	FCI	**FC = 14 %**	**GC = 5 %**		**80 BARS**	**84 BARS**	**200BARS**
Volume d'extracteur	Prado [126] **$**	**0,14**	**0,05**	**[$/an]**	**[$/an]**	**[$/an]**	**[$/an]**
[litres]		Coût fixe	Coût général	TC = FC + GC	TC + DC	TC + DC	TC + DC
5	200 000	28 000	10 000	38 000	91169,44	91245,80	91 193,42
50	500 000	70 000	25 000	95 000	340996,58	336098,58	340 996,58
100	750 000	105 000	37 500	142 500	604472,20	596637,95	604 472,20
200	1 125 000	157 500	56 250	213 750	1092133,40	1079778,24	1 092 133,40
300	1 500 000	210 000	75 000	285 000	1581560,42	1565378,23	1 581 560,42
400	1 750 000	245 000	87 500	332 500	2045542,75	2025950,77	2 045 542,75
500	2 000 000	280 000	100 000	380 000	2505721,91	2483018,94	2 505 721,91
1000	3 000 000	420 000	150 000	570 000	4768138,71	4732120,48	4 768 138,71

Après avoir déterminé le coût de chaque type de dépense, nous dresserons le tableau qui nous offre la production annuelle en extrait de *Pistacia* et le coût de fabrication finale d'un kg d'extrait de cette plante issue de la Flore Tunisienne pour différentes conditions optimales et pour différentes tailles d'installations. La Courbe 42 montre bien que pour l'installation à grande taille, il est possible d'aboutir à un produit avec une bonne activité antioxydante et avec le moindre prix. Pour l'installation de 1000 litres de capacité, le prix d'un kilogramme d'extrait est de l'ordre de 584$ pour un extrait avec le meilleur rapport qualité prix. Si on compare le prix d'un kilogramme de l'huile essentielle de *Pistacia* issue par hydrodistillation, on trouve que le prix d'un kg est de l'ordre de 3600 $(selon SEPEX –Tunisie).

Nous rappelons que nous avons travaillé à 84 bars pour avoir les conditions optimales globales, à cette pression et en se basant sur les travaux de Congiu et al. [37], nous pouvons dire que la composition de l'extrait à cette pression est proche de celle d'une huile essentielle issue par hydrodistillation. Un kg d'extrait est 6 fois moins cher qu'un kg d'huile essentielle.

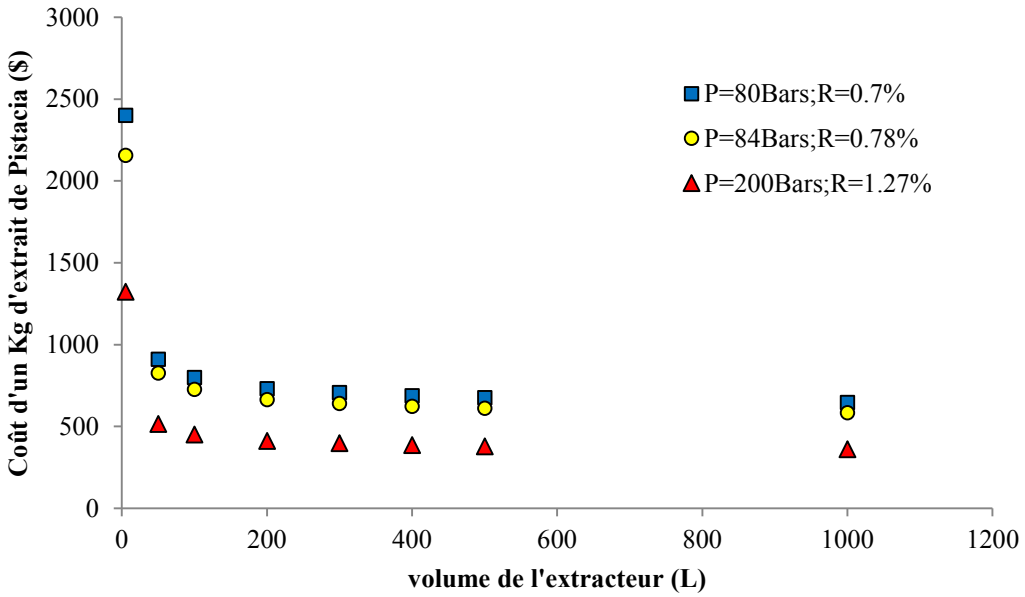


Figure 42. Variation du coût d'un kilogramme d'extrait pour différentes installations et pour les trois conditions étudiées

II.4. Conclusion

L'optimisation de l'extraction de *Pistacia* et de l'activité antioxydante en utilisant un plan composite central montrée

Pour mieux mettre en valeur nos extraits, nous étudions par la suite la composition et la variation de l'activité antioxydante en fonction de la composition chimique pour toutes les expériences réalisées afin de pouvoir obtenir la corrélation entre la composition chimique et l'effet antioxydant.

II.5. Composition d'extrait de Pistacia et recherche des composés responsables de l'activité antioxydante

Dans cette partie, nous réalisons l'analyse par GC/MS et CG/FID de la composition chimique de la partie volatile d'extrait de *Pistacia* à différentes conditions opératoires pour toutes les expériences utilisées précédemment dans la partie optimisation du rendement et de l'activité antioxydante. Pour les cinq dernières expériences, nous analysons seulement la 25èmeexpérience puisque ce sont des répétitions de la même expérience (répétition au centre). Les résultats sont regroupés dans le tableau suivant pour les cinq premières expériences (voir Tableau 24) et les autres résultats sont en Annexe 4.

L'analyse chromatographique par CG/FID et CG/SM d'extrait par CO_2 supercritique de la feuille de *Pistacia lentiscus* a permis d'identifier 40 composés (Tableau 37). Cette composition varie en fonction des conditions opératoires pour la majorité des composés dont les composés majeurs sont : l'α-pinène qui a un teneur qui varie entre 30,1% et 36,41%, le terpinène-4-ol (12,06% et 13,94), l'α-terpinéol (4,88%-6,89%); le β-caryophyllène (3,12%-4,98%) et le 1,8-cinéole (5,1%-6,88%)

Tableau 37 : Variation de la composition chimique en fonction des conditions opératoires

Composé volatil	RI	Identification	Expérience 1	Expérience 2	Expérience 3	Expérience 4	Expérience 5
Tricyclène	924	GC/MS, Co GC	1,75± 0,12	1,15± 0,11	1,05± 0,13	0,9± 0,14	0,88± 0,13
α –pinène	**939**	**GC/MS, Co GC**	**34,3± 1,29**	**33,3± 1,34**	**33,3± 1,98**	**30± 1,66**	**33,21± 1,15**
Z-3-hexenol	855	GC/MS	0,12± 0.03	0,32± 0.04	0,12± 0.01	0,15± 0.04	0,25± 0.03
E-2-hexenol	856	GC/MS, Co GC	0,06± 0,02	0,01± 0.00	0,09± 0,02	0,01± 0,0	0,08± 0,03
Hexanol	865	GC/MS	0,85± 0.11	0,15± 0.09	0,25± 0.04	0,36± 0.08	0,31± 0.07
E-2-hexenal	850	GC/MS	0,15± 0.03	0,25± 0.01	0,19± 0.02	0,12± 0.03	0,16± 0.04
α-thujène	928	GC/MS, Co GC	0,26± 0.06	0,23± 0.03	0,2± 0.03	0,21± 0.04	0,31± 0.05
Camphre	954	GC/MS, Co GC	0,98± 0.12	1,8± 0.21	1,6± 0.19	1,8± 0.23	1,6± 0.19
Camphène	954	GC/MS	0,19± 0.07	0,59± 0.08	0,89± 0.07	0,66± 0.04	0,79± 0.06
Sabinène	975	GC/MS	0,08± 0.01	0,09± 0.02	0,19± 0.06	0,22± 0.03	0,12± 0.02
β-pinène	980	GC/MS	1,34± 0.22	2,14± 0.12	2,04± 0.11	2,54± 0.13	2,64± 0.15
Myrcène	991	GC/MS	0,34± 0.07	0,34± 0.06	0,24± 0.03	0,26± 0.04	0,16± 0.03
α phellandrène	1006	GC/MS	0,14± 0.03	0,24± 0.04	0,24± 0.04	0,25± 0.03	0,24± 0.02
Δ-3-carène	1011	GC/MS	0,08± 0.01	0,12± 0.02	0,22± 0.03	0,12± 0.03	0,02± 0.00
p-cymène	1026	GC/MS	2,1± 0.09	2,7± 0.13	1,7± 0.14	2,7± 0.13	2,18± 0.15
Limonène	1030	GC/MS	1,19± 0.22	1,89± 0.17	1,19± 0.13	1,89± 0,18	1,8± 0,16
1,8-cinéole	**1033**	**GC/MS**	**6,88± 1,02**	**6,1± 0,95**	**5,1± 1,1**	**6,1± 1,21**	**5,88± 1,11**
(*E*)-β-Ocimène	1050	GC/MS	0,1± 0.01	0,12± 0.02	0,52± 0,04	0,82± 0,06	0,92± 0.09
γ -terpinène	1053	GC/MS	0,1± 0.01	0,6± 0.04	0,5± 0.06	0,66± 0.08	0,99± 0.08
Oxyde de Cis-linalool	1074	GC/MS	0,94± 0.09	0,840± 0.08	0,94± 0,07	1,4± 0.11	1,6± 0.15
Oxyde de Trans linalool	1088	GC/MS	0,5± 0.06	0,80± 0.08	0,6± 0.07	0,8± 0.09	0,9± 0,11
Terpinolène	1092	GC/MS	0,03± 0.01	0,04± 0.01	0,06± 0.01	0,16± 0.02	0,46± 0.05
Linalool	1098	GC/MS	2,49± 0,19	2,89± 0.26	2,59± 0.21	2,89± 0.25	2,69± 0.26
Bornéol	1165	GC/MS	4,39± 0,65	3,49± 0.79	3,92± 0,87	3,12± 0,66	3,82± 0.59
Terpinène-4-ol	**1178**	**GC/MS**	**13,66± 0,89**	**13,24± 0.79**	**13,04± 0.98**	**13,24± 1,06**	**13,94± 1,02**
α -terpinéol	**1189**	**GC/MS**	**4,36± 0,68**	**4,31± 0.78**	**4,61± 0,85**	**4,01± 0,76**	**4,41± 0,87**
Géraniol	1255	GC/MS	0,36± 0.04	0,66± 0.08	0,69± 0.06	0,89± 0.09	0,99± 0,11
Acétate de bornyle	1295	GC/MS	3,02± 0,55	2,92± 0.59	2,82± 0,56	2,12±0,75	2,62± 0,65
Tridécane	1300	GC/MS	0,06± 0.02	0,08± 0.03	0,08± 0.01	0,08± 0.01	0,18± 0.04
Linalyl de proprionate	1325	GC/MS	1,75± 0.23	1,55± 0.17	1,55± 0,16	1,55± 0.17	1,35± 0.15
Acétate d'α terpenyle	1344	GC/MS	0,73± 0.08	0,73± 0.07	0,73± 0.08	0,73± 0.07	0,83± 0.08
α -cubebène	1351	GC/MS	0,03± 0.01	0,04± 0.01	0,04± 0.01	0,04± 0.01	0,14± 0.01
Copaène	1372	GC/MS	0,46± 0.06	0,86± 0.08	0,77± 0.09	0,96± 0.11	0,66± 0.08
β elemène	1391	GC/MS	0,83± 0.09	0,93± 0.07	0,83± 0.07	0,78± 0.08	0,73± 0.09
β-caryophyllène	**1434**	**GC/MS, Co GC**	**4,66± 0,56**	**4,62± 0.55**	**4,02± 0,39**	**4,92± 0.41**	**4,72± 0.52**
α -humulène	1454	GC/MS	0,24± 0.02	0,44± 0.05	0,64± 0,07	0,64± 0.08	0,39± 0.04
Alloaromandrène	1474	GC/MS	0,21± 0.02	0,31± 0.02	0,51± 0.06	0,11± 0.01	0,21± 0.02
Delta muurolène	476	GC/MS	0,31± 0.04	0,21± 0.03	0,11± 0.01	0,41± 0.05	0,49± 0.06
Germacrène D	1480	GC/MS, Co GC	0,32± 0,04	0,22± 0.03	0,12± 0.01	0,31± 0.04	0,42± 0.05
Nonadécanone	1900	GC/MS	0,09± 0.03	0,02± 0.01	0,04± 0.01	0,08± 0.01	0,06± 0.01

Congiu et al. [37] ont analysé la compostion d'extrait de *Pistacia* en Italie et ils ont trouvé que le β-caryophyllène (31,38%), le germacrène D (12,05%) et le γ-cadinène (6,48%) sont les composés majoritaires. Afin de comprendre l'effet de la composition sur la qualité d'extrait, nous examinons les corrélations établies entre la composition chimique de la partie volatile et l'activité antioxyadante normalisée. Les tableaux ci-dessous résument les résultats de l'étude de la régression linéaire multiple suivant la méthode pas à pas.

La première étape consiste à chercher des groupes indépendants des composés qui ont un comportement similaire vis-à-vis la variation de l'activité antioxydante : les tableaux 38 et 39 nous donne 12 groupes indépendants dont les composés de chaque groupe sont corrélés.

Le tableau 39 montre les différents composés pour chaque groupe, ce résultat peut nous servir pour avoir une idée sur les composés qui ont la même tendance à influencer l'activité antioxydante d'extrait de *Pistacia* et cela en regardant les conditions opératoires qui peuvent nous fournir un pourcentage élevé pour un groupe donné groupe.

A titre d'exemple si on veut concentrer notre extrait en classe 1 qui est constitué de terpinolène, p-cymène, α-athujène, α-cubebène, camphre, myrcène, sabinène, bornéol et limonène, il faut travailler à des pressions de l'ordre de 200 bars avec un faible débit de CO_2 0,6 $kg.h^{-1}$.

Tableau 38 : Tableau de la variance expliquée : méthode d'extraction des facteurs et analyse en composants principales

Variance Totale expliquée									
Composé	Valeurs propres initiales			Extraction Sums of Squared Loadings			Rotation Sums of Squared Loadings		
	Totale	% De variance	Cumulative %	Total	% De variance	Cumulative %	Total	% De variance	Cumulative %
1	8,037	20,091	20,091	8,037	20,091	20,091	6,232	15,580	15,580
2	6,054	15,135	35,226	6,054	15,135	35,226	4,421	11,053	26,633
3	4,211	10,528	45,754	4,211	10,528	45,754	3,272	8,181	34,813
4	3,026	7,565	53,319	3,026	7,565	53,319	2,825	7,062	41,875
5	2,892	7,231	60,550	2,892	7,231	60,550	2,694	6,734	48,609
6	2,338	5,844	66,394	2,338	5,844	66,394	2,587	6,467	55,076
7	2,069	5,171	71,566	2,069	5,171	71,566	2,399	5,997	61,073
8	1,633	4,083	75,649	1,633	4,083	75,649	2,308	5,770	66,844
9	1,597	3,992	79,641	1,597	3,992	79,641	2,304	5,759	72,603
10	1,379	3,447	83,089	1,379	3,447	83,089	2,295	5,738	78,340
11	1,321	3,302	86,391	1,321	3,302	86,391	2,268	5,670	84,010
12	1,147	2,869	89,260	1,147	2,869	89,260	2,100	5,250	89,260

	Classes indépendants											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
terpinolène	0,868	0,006	0,289	-0,045	-0,123	0,055	0,040	0,077	0,120	0,130	0,246	-0,025
délta3carène	-0,845	-0,120	0,137	0,191	0,114	0,031	-0,048	-0,371	0,010	-0,091	0,141	0,145
pcymène	-0,827	-0,057	0,173	0,084	-0,113	-0,386	0,079	0,024	0,021	-0,030	-0,053	0,182
A-thujène	0,764	0,020	-0,078	-0,145	0,181	0,143	0,414	-0,037	-0,023	-0,150	-0,205	0,242
α-cubebène	0,741	0,018	0,148	-0,079	-0,234	-0,127	-0,033	0,439	-0,093	0,124	-0,186	0,067
Camphre	0,691	-0,317	-0,013	0,029	-0,003	-0,012	-0,020	-0,188	-0,197	-0,141	-0,103	-0,424
terpinène4ol	-0,648	0,217	0,364	0,246	-0,022	-0,122	0,196	0,041	0,046	-0,077	-0,341	0,108
Myrcène	0,626	-0,099	-0,016	0,055	0,178	0,459	0,100	0,057	-0,340	-0,217	0,061	-0,289
Tricyclène	-0,543	-0,109	-0,043	0,418	0,093	-0,224	-0,211	-0,487	0,026	-0,047	0,007	0,305
Sabinène	0,516	-0,149	-0,493	-0,002	0,026	0,089	0,480	-0,157	0,206	-0,271	0,075	-0,091
α-terpinéol	0,008	0,971	-0,007	-0,006	0,011	0,060	0,006	-0,047	0,042	-0,074	-0,057	-0,010
oxydedecislinalool	-0,032	0,968	-0,002	-0,053	0,017	0,051	-0,005	-0,045	0,064	-0,053	-,045	-0,007
géraniol	-0,039	0,906	0,079	0,010	-0,138	0,153	-0,019	0,056	0,174	-0,016	-0,078	-0,149
Acétate d'α-terpenyl	-0,050	0,741	0,127	-0,062	0,381	0-,296	-0,287	0,113	-0,031	0,173	0,091	0,098
β-caryophyllène	0,150	0,515	0,401	0,048	-0,406	-0,057	-0,072	-0,041	0,044	0,458	-0,260	-0,146
Z3hexenol	0,220	-0,084	0,829	0,066	-0,256	0,139	-0,092	-0,108	-0,063	-0,082	-0,141	0,244
B-pinène	-0,076	-0,001	0,758	-0,407	0,131	0,077	-0,200	0,330	0,038	0,133	0,092	-0,063
bornéol	0,441	-0,304	-0,660	0,131	-0,046	0,122	-0,203	0,023	0,012	-0,181	-0,027	0,184
Hexanol	0,185	-0,102	-0,572	0,012	-0,192	0,436	0,454	0,092	-0,077	-0,240	-0,023	0,167
α-pinène	-0,068	-0,254	0,004	0,805	0,069	-0,016	-0,232	0,354	-0,022	0,050	0,046	0,044
Camphène	0,277	-0,049	0,164	-0,762	-0,015	0,022	0,023	0,316	-0,025	0,190	0,335	-0,045
1,8-cinéole	-0,172	0,297	-0,056	0,688	0,193	-0,266	0,202	-0,210	-0,029	-0,216	-0,181	-0,160
copaène	0,077	0,155	-0,051	-0,036	0,804	-0,066	0,086	-0,130	0,014	0,189	0,027	-0,289
alloaromandrène	-0,055	-0,227	-0,152	0,154	0,720	-0,142	-0,055	-0,017	0,386	-0,082	0,037	0,171
gammaterpinène	-0,080	0,019	0,132	0,144	0,601	-0,310	-0,067	0,296	-0,243	0,080	-0,178	0,250
Germacrène D	0,127	0,076	0,008	-0,006	-0,093	0,900	0,083	0,159	-0,051	-0,004	0,052	-0,028
deltamuurolène	0,212	0,103	0,041	-0,308	-0,256	0,696	-0,156	-0,085	0,197	0,184	0,128	0,052
linalool	0,075	-0,028	-0,037	-0,013	0,005	-0,044	0,914	-0,025	-0,101	0,067	0,157	-0,046
Acétate de bornyle	-0,119	-0,239	-0,410	-0,059	0,093	0,144	0,572	-0,075	-0,163	-0,448	-0,213	0,025
α-phellandrène	0,183	0,000	0,025	-0,014	0,019	0,107	-0,072	0,918	-0,112	0,086	0,038	-0,006
Oxyde de translinalool	-0,011	0,146	-0,199	-0,070	0,222	0,090	-0,049	-0,099	0,871	-0,099	-0,113	-0,041
E2hexenol	0,116	-0,241	-0,358	-0,102	0,151	0,104	0,169	0,079	-0,719	-0,213	-0,011	0,122

linalyldepropionate	0,056	-0,177	0,094	-0,121	0,099	0,059	-0,020	0,230	-0,052	0,889	0,041	0,011
B-elmène	-0,255	0,104	0,088	-0,331	0,297	0,011	-0,073	-0,316	0,094	0,527	-0,274	-0,318
ebétaocimène	-0,056	-0,235	-0,043	-0,091	-0,064	0,206	0,194	0,081	-0,206	-0,183	0,781	-0,074
tridécane	0,071	0,150	0,043	-0,164	0,139	0,133	0,043	-0,207	0,184	0,416	0,593	0,109
E2hexenal	-0,044	0,070	0,269	0,065	0,396	0,238	0,137	-0,121	0,354	-0,066	-0,554	-0,388
nonadécanone	-0,379	-0,137	0,126	-0,239	0,212	-0,316	-0,119	0,117	0,274	-0,027	0,471	0,401
Limonène	0,443	0,095	-0,048	-0,015	-0,006	0,010	0,059	0,088	0,260	0,073	-0,055	-0,716
α-humulène	-0,338	-0,217	-0,066	0,484	-0,164	0,042	0,295	-0,084	0,313	-0,019	0,032	0,507

Cette étude n'a pas donnée assez d'information, pour donner suite aux effets synergiques des composés dans un même groupe, pour cette raison nous étudierons par la suite l'effet de chaque composé à part sur l'activité antioxydante.

L'étude de l'effet global de chaque composé par SPSS nous a donné 6 composés qui ont une influence significative sur la réponse étudiée.

Nous supposerons que l'activité antioxydante est liée à chaque composant par l'équation générale des droites de régression :

$$Y = a + \sum_{i=1}^{6} b_i X_i$$

La variable dépendante Y représente le rapport d'efficacité des extraits obtenus sous différentes conditions opératoires (T, P) par rapport à un antioxydant (BHT) utilisé à l'état pur à la même concentration.

Les variables dépendantes Xi représentent les moyennes des valeurs des teneurs réduites en composés volatiles et chaque expérience est réalisée en triplet.

Le recourt à l'utilisation des valeurs réduites pour les variables indépendantes nous a permis de remédier au problème de multi-colinéarité entre celles-ci et par la suite d'assurer la condition d'indépendance des erreurs. La valeur du coefficient de Durbin –Watson de 1,984 (proche de deux) confirme l'absence du problème de multi-colinéarité (voir tableau 40).

Le recourt à la méthode pas à pas ascendante (vérifier la pertinence des variable incrémentées une à une), se justifie par le nombre réduit des expériences (29) comparé au nombre des variables dépendantes étudiées (41).

Tableau 40 : Validation et analyse des modèles choisis

Résumé du modèle										
Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate	Change Statistics					Durbin-Watson
					R Square Change	F Change	df1	df2	Sig. F Change	
1	0,565[a]	0,320	0,290	44,9864236	0,320	10,805	1	23	0,003	
2	0,743[b]	0,552	0,511	37,3239132	0,232	11,413	1	22	0,003	
3	0,798[c]	0,637	0,585	34,3906008	0,085	4,913	1	21	0,038	
4	0,862[d]	0,743	0,691	29,6557095	0,106	8,241	1	20	0,009	
5	0,945[e]	0,892	0,864	19,6920710	0,149	26,359	1	19	0,000	
6	0,957[f]	0,916	0,888	17,8459257	0,024	5,134	1	18	0,036	1,984
a. Prédiction : (Constante), nonadécanone										
b. Prédiction : (Constante), nonadécanone, E2hexenol										
c. Prédiction : (Constante), nonadécanone, E2hexenol, Limonène										
d. Prédictions : (Constante), nonadécanone, E2hexenol, Limonène, α-pinène										
e. Prédictions : (Constante), nonadécanone, E2hexenol, Limonène, α-pinène, alloaromandrène										
f. Prédictions : (Constante), nonadécanone, E2hexenol, Limonène, α-pinène, alloaromandrène, α-cubebène										

Six modèles très significatifs avec un seuil de significativité largement inférieur à 5% d'après les valeurs figurent dans le tableau 41. Le sixième modèle présente la valeur de R^2 ajustée la plus élevée (R^2 ajustée de 0,888). Nous retenons celui-ci et l'équation de la droite de régression est alors la suivante :

$$Y=29,081- 6,644*X_1-7,9*X_2 +4,231*X_3+6,844 *X_4- 0,780* X_5 - 3,403 *X_6$$

Avec

X_1 : nonadécanone

X_2 : (E)-2-Hexenol

X_3 : Limonène

X_4 : α-pinène

X_5 : alloaromandrène

X_6 : α-cubebène

Les valeurs de Y_{exp} varient de 1 à 200%, la valeur de la constante de 29,081 traduit l'effet important des variables non prises en considération pour l'élaboration du modèle (les composés non volatiles, les composées volatiles non identifiés (teneur moyenne de 10%).

Les signes positifs des coefficients relatifs aux facteurs limonène et α-pinène montrent que l'activité antioxydante des extraits réagit positivement à une augmentation des teneurs de ceux-

ci. Le coefficient standardisé relatif au limonène (0,535) et légèrement supérieur à celui relatif à l'α-pinène (0,501) traduisant des effets similaires de ces paramètres sur la réponse. Parmi les paramètres à coefficients standardisés négatives l'alloaromandrène est celui dont la variation est la plus significatif (-0,487).

Le modèle élaboré n'est pas concluant puisque on n'a pas pris en considération l'effet de tous les composés susceptibles d'affecter l'activité antioxydante des extraits et surtout les composés phénoliques. Ces derniers présentent des propriétés oxydo-réductrices et jouent ainsi un rôle important dans la neutralisation des radicaux libres.

Guimarães et al. [132] ont reporté une activité antioxydante importante de l'α-pinène à l'état pur avec une valeur d'IC50 de18 µL/ml. Dans le cadre des études effectuées sur les huiles essentielles de la lavande, Deans et al. [133] et Lis-Balchin et al. [134], ont prouvé qu'il n'y avait aucune corrélation entre le pourcentage des principaux composants (linalol et linalyl acétate) et l'activité antioxydante des huiles essentielles.

L'α-pinène et le limonène les deux composés volatils figurant dans l'équation de la droite de régression et présentant un effet positif sur la réponse appartiennent à la classe des composés mono terpéniques hydrocarbonés. Le limonène a un effet positif sur l'activité antioxydante légèrement supérieur à celui de l'α-pinène, ce dernier est le composé volatil majoritaire des extraits obtenus, et sa teneur moyenne est 17 fois supérieure à celle du limonène. Cependant les résultats obtenus nous laissent penser qu'un effet synergique possible peut exister entre ces deux composés.

Tableau 41 : Tableau D'ANNOVA pour les différents modèles

				Somme carrées		
	Model	**Somme des carrés**	**Degrés de liberté**	**Somme carrés moyens**	**F**	**Sig.**
1	**Régression**	21866,404	1	21866,404	10,805	0,003[a]
	Résiduel	46546,901	23	2023,778		
	Total	68413,306	24			
2	**Régression**	37765,667	2	18882,833	13,555	0,000[b]
	Résiduel	30647,639	22	1393,074		
	Total	68413,306	24			
3	**Régression**	43576,324	3	14525,441	12,281	0,000[c]
	Résiduel	24836,982	21	1182,713		
	Total	68413,306	24			
4	**Régression**	50824,083	4	12706,021	14,448	0,000[d]
	Résiduel	17589,222	20	879,461		
	Total	68413,306	24			
5	**Régression**	61045,530	5	12209,106	31,485	0,000[e]
	Résiduel	7367,776	19	387,778		
	Total	68413,306	24			
6	**Régression**	62680,718	6	10446,786	32,802	0,000[f]
	Résiduel	5732,587	18	318,477		
	Total	68413,306	24			

Tableau 42: Etude statistique des modèles réduits

Modèle		Coefficients non standardisés		Coefficients standardisés	t	Sig.	Corrélations			Colinéarité statistique	
		B	Erreur standard	béta			Ordre Zéro	partiel	Partie	Tolérance	VIF
1	(Constante)	98,293	11,495		8,551	0,000					
	nonadécanone	-13,359	4,064	-0,565	-3,287	0,003	-0,565	-0,565	-0,565	1,000	1,000
2	(Constante)	137,467	15,014		9,156	0,000					
	nonadécanone	-15,379	3,425	-0,651	-4,491	0,000	-0,565	-0,692	-0,641	0,970	1,031
	E2hexenol	-12,153	3,597	-0,490	-3,378	0,003	-0,376	-0,584	-0,482	0,970	1,031
3	(Constant)	89,768	25,583		3,509	0,002					
	nonadécanone	-12,496	3,413	-0,529	-3,661	0,001	-0,565	-,624	-0,481	0,829	1,207
	E2hexenol	-10,656	3,383	-0,429	-3,150	0,005	-0,376	-0,566	-0,414	0,931	1,074
	Limonène	2,513	1,134	0,318	2,217	0,038	0,556	0,435	0,291	0,842	1,188
4	(Constant)	-26,011	45,970		-,566	0,578					
	nonadécanone	-11,113	2,982	-0,470	-3,726	0,001	-0,565	-,640	-0,423	0,807	1,239
	E2hexenol	-9,591	2,940	-0,386	-3,262	0,004	-0,376	-,589	-0,370	0,916	1,092
	Limonène	3,110	1,000	0,393	3,111	0,006	0,556	0,571	0,353	0,806	1,241
	α-pinène	4,575	1,594	0,335	2,871	0,009	0,338	0,540	0,325	0,945	1,058
5	(Constant)	11,567	31,390		,368	0,717					
	nonadécanone	-6,739	2,156	-0,285	-3,126	0,006	-0,565	-0,583	-0,235	0,681	1,468
	E2hexenol	-8,803	1,959	-0,355	-4,495	0,000	-0,376	-0,718	-0,338	0,910	1,098
	Limonène	3,625	,671	0,458	5,400	0,000	,556	0,778	0,407	0,787	1,270
	α-pinène	6,365	1,114	0,466	5,713	0,000	0,338	0,795	0,430	0,852	1,173
	alloaromandrène	-9,606	1,871	-0,434	-5,134	0,000	-0,427	-0,762	-0,387	0,793	1,261
6	(Constant)	29,081	29,479		,987	0,337					
	nonadécanone	-6,644	1,954	-0,281	-3,400	0,003	-0,565	-0,625	-0,232	0,681	1,469
	E2hexenol	-7,900	1,819	-0,318	-4,343	0,000	-0,376	-0,715	-0,296	0,867	1,154
	Limonène	4,231	,665	0,535	6,367	0,000	0,556	0,832	0,434	0,660	1,515
	α-pinène	6,844	1,032	0,501	6,634	0,000	0,338	0,842	0,453	0,817	1,225
	alloaromandrène	-10,780	1,773	-0,487	-6,080	0,000	-0,427	-0,820	-0,415	0,725	1,379
	alphacubebène	-3,403	1,502	-0,181	-2,266	,036	0,206	-0,471	-0,155	0,730	1,370

III. Application Industrielle

III.1. Etude de la stabilité oxydative d'huile de beurre additionnée des extraits de Pistacia et de Myrte.

III.1.1. Introduction

Pendant longtemps, l'utilisation de la matière grasse butyrique est restée limitée à la fabrication de la crème, du beurre et de quelques produits dérivés. Vers le milieu du XXe siècle, sous l'évolution des besoins, des techniques et des réglementations, de nouveaux produits sont apparus : huile de beurre, beurre allégé, spécialités à tartiner additionnées ou non de matière grasse d'origine non laitière (FAO" Food and Agriculture Organization", 1995).

L'huile de beurre (sman) est obtenue par chauffage du beurre traditionnel et séparation de la phase lipidique du lactosérum. La partie majeure de l'huile de beurre est utilisée pour la préparation des produits culinaires [135-136]. La détérioration de ce type de produit (par lipolyse et oxydation) est associée à plusieurs facteurs, et cause l'apparition des flaveurs indésirables, la réduction de la valeur nutritionnelle et elle est à l'origine des problèmes sérieux de stabilité au cours de l'entreposage [137-138]. L'un des problèmes les plus étudiés est la conservation de β-carotène qui est un pigment naturel lipophile présent dans de nombreuses huiles, telles que l'huile de palmier, d'oliviers et l'huile de beurre. Le rôle le plus important des pigments caroténoïdes dans l'alimentation des humains et des animaux est leur activité provitamine A, ainsi que l'association de leur consommation à une plus faible incidence de certains types de cancer, et au renforcement de la protection contre les maladies cardio-vasculaires [139-140].

Le β-carotène a également une forte activité antioxydante. Cependant, la dégradation des caroténoïdes dans les aliments ou dans des systèmes modèles est un phénomène largement complexe. Malgré que, les systèmes modèles ne représentent pas fidèlement une matrice alimentaire, on a récemment observé [141], que le β-carotène joue un rôle significatif durant l'oxydation au niveau cellulaire.

Dans ce contexte et dans le but de valoriser nos extraits, nous étudierons l'effet de l'ajout des antioxydants naturels sur la stabilité et l'amélioration de l'huile de beurre commercialisée.

III.1.2. Essais de chauffage et antioxydants

III.1.2.1. Variation de la teneur en β-carotène

Les figures 43, 44, 45, 46 et 47 représentent la variation de la teneur en béta carotène durant l'entreposage à 44°C de l'huile de beurre additionnée des extraits et de β-carotène. La première courbe va nous servir comme témoin pour voir l'effet de l'ajout des extraits et de l'huile essentielle sur la conservation de β-carotène dans l'huile de beurre.

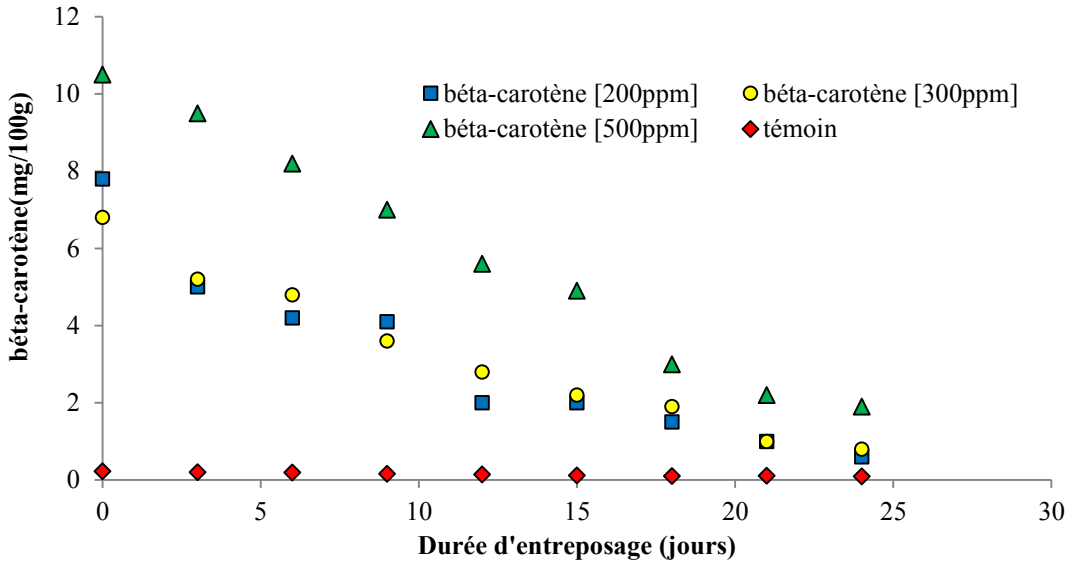


Figure 43. Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre, à différentes concentrations en fonction des jours d'entreposage

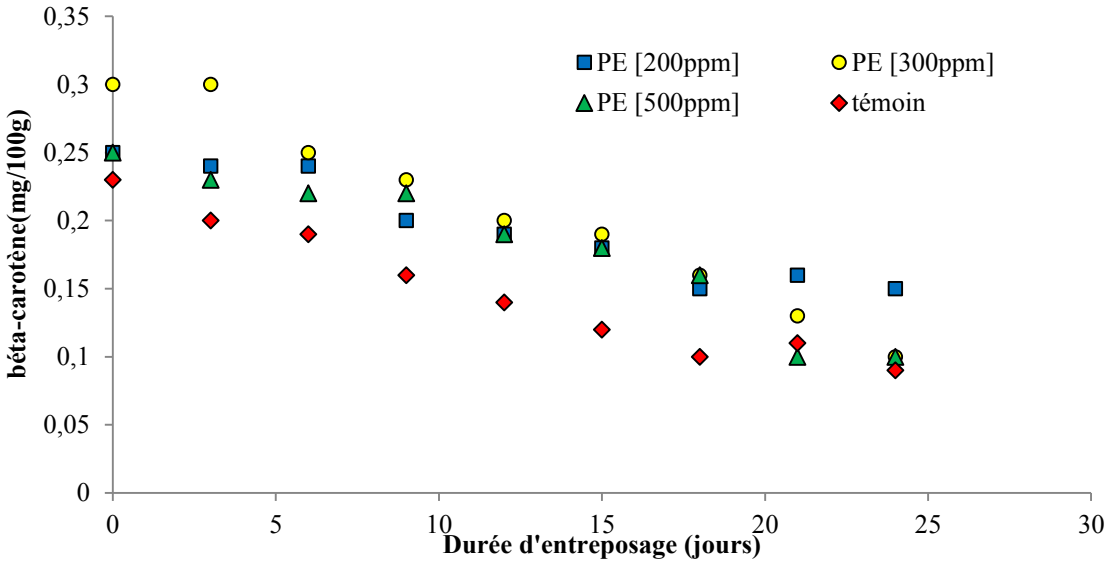


Figure 44. Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre, à différentes concentrations d'extrait de *Pistacia* par CO_2 pour l'expérience numéro 12 en fonction des jours d'entreposage

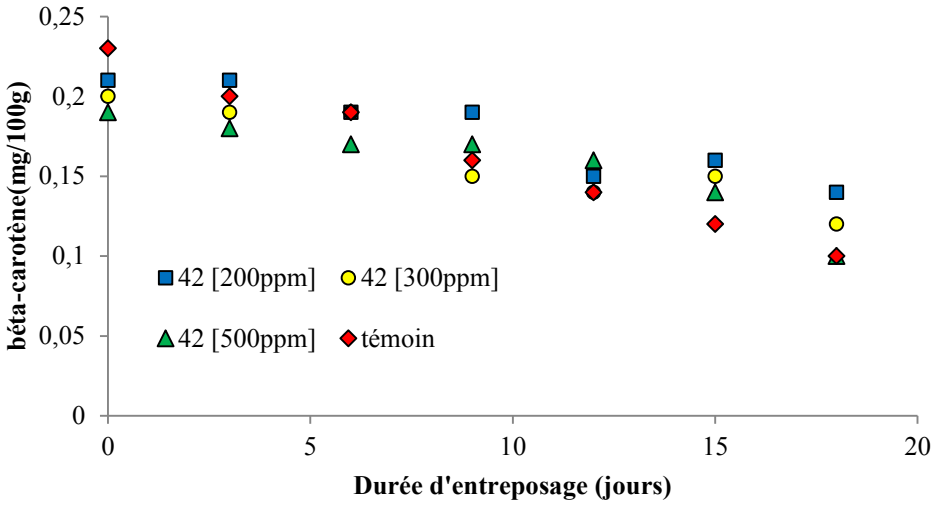


Figure 45. Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre, à différentes concentrations de l'huile essentielle de *Pistacia* en fonction des jours d'entreposage

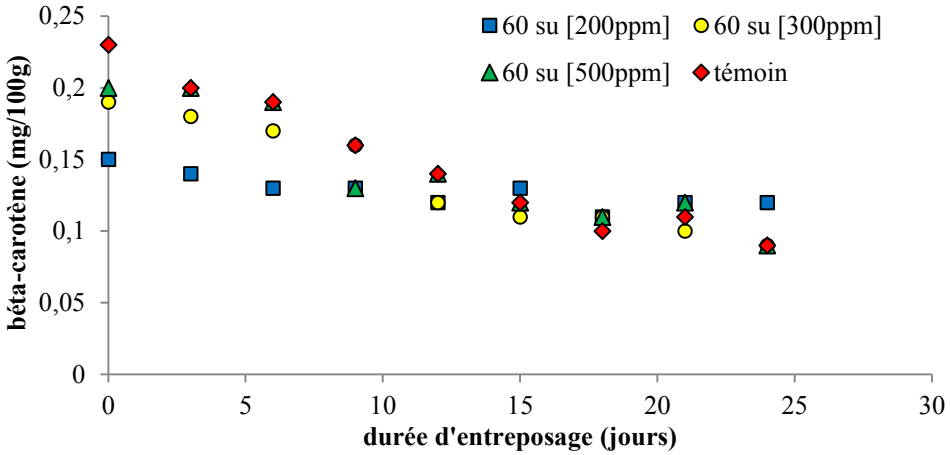


Figure 46. Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre, à différentes concentrations d'huile essentielle de myrte en fonction des jours d'entreposage

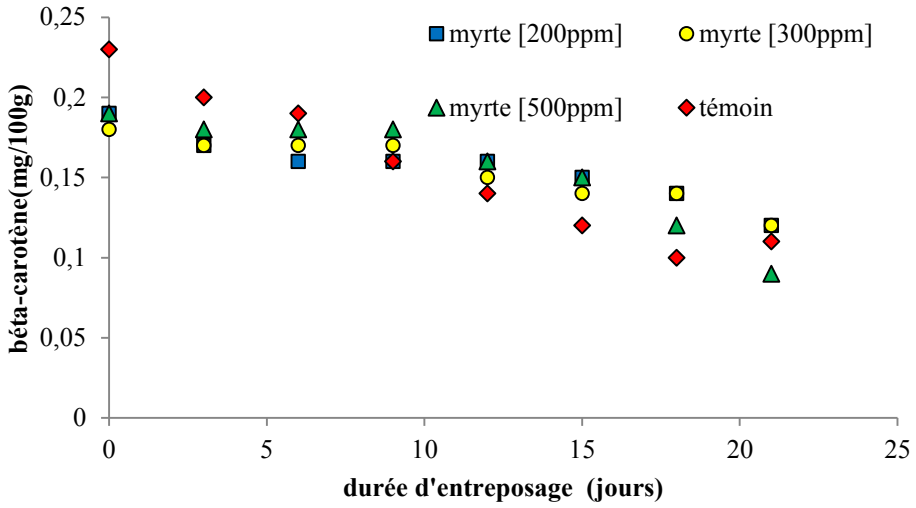


Figure 47. Variation de la teneur en β-carotène ajouté au beurre, à différentes concentrations de l'extrait de myrte par CO_2 pour l'expérience numéro 12 en fonction des jours d'entreposage

La teneur en β-carotène décroit en fonction de la durée d'entreposage pour les différents échantillons. La décroissance de cette teneur a été perceptible dès le premier jour d'entreposage.

Cette supposition est justifiée par des valeurs de R^2 (coefficient de corrélation) situées entre 0,843 et 0,988 comme le montre le tableau ci-dessous.

L'allure linéaire des différentes courbes, nous amène à supposer à première vu que la cinétique de dégradation du β-carotène est d'ordre zéro.

Tableau 43 : Estimation des de la constante de dégradation de β-carotène pour les différents échantillons et à différentes concentrations dans le produit

Echantillon	**k (mg/100g/jour)**	**R^2**
β-carotène		
500ppm	0,382	0,988
300ppm	0,268	0,899
200ppm	0,243	0,965
Témoin	0,005	0,952
PE=Extrait de *Pistacia* par CO_2		
500ppm	0 ,006	0,926
300ppm	0,008	0,985
200ppm	0,004	0,931
Témoin	0,005	0,952
42 : huile essentielle de *Pistacia*		

500ppm	0,004	0,843
300ppm	0,004	0,852
200ppm	0,004	0,865
Témoin	0,007	0,993
60su = huile essentielle de myrte		
500ppm	0,004	0,871
300ppm	0,004	0,942
200ppm	0,001	0,896
Témoin	0,005	0,952
Myrte= extrait de Myrte par CO_2		
500ppm	0,004	0,854
300ppm	0,002	0,917
200ppm	0,002	0,894
témoin	0,006	0,953

A partir des données relatives à la vitesse de dégradation et à la quantité initiale de β-carotène des échantillons enrichis en ce composé, on trace la variation de la vitesse de dégradation en fonction de la concentration initiale du produit en β-carotène (figure 48).

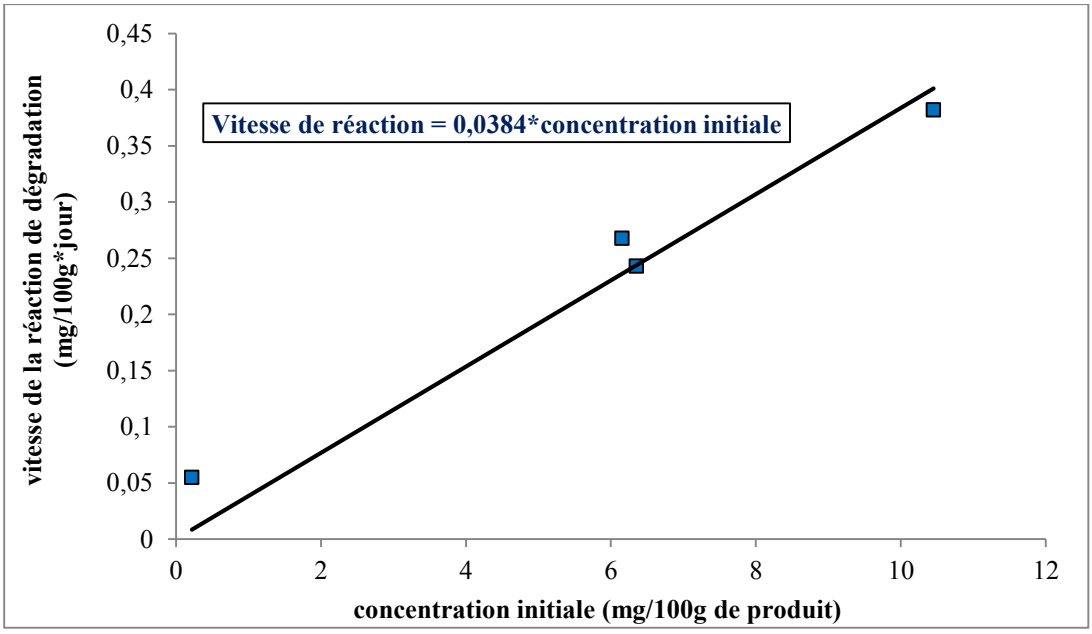


Figure 48. Variation de la vitesse de dégradation du β-carotène en fonction de sa concentration dans l'huile de beure

D'après cette courbe, nous pouvons conclure que l'augmentation de la teneur en β-carotène initialement présente dans le produit, s'accompagne d'une accélération de la dégradation de ce composé. Dans un premier temps, nous supposons que la vitesse de dégradation du β-carotène

est proportionnelle à sa concentration initialement présente dans le produit avec un coefficient de proportionnalité de 0,038 $jour^{-1}$.

L'efficacité antioxydante du β-carotène dépend de l'équilibre entre le piégeage des radicaux et son auto-oxydation. Subagio et al. [142] ont proposé deux mécanismes d'interaction entre les caroténoïdes et les triglycérides au cours de l'oxydation, puisqu'ils ont constaté que plus la quantité de caroténoïde ajoutée était élevée, plus la vitesse d'oxydation des triglycérides et également la vitesse de dégradation du caroténoïde est élevée, bien que la matrice sujette à l'oxydation influence ce mécanisme. Les constatations de Subagio et al. [142], concernant la corrélation entre la concentration en β-carotène et la vitesse de dégradation de ce dernier affirme ce qu'on vient de suggérer ci-dessus à propos d'huile de beurre pour laquelle la vitesse de dégradation est proportionnelle à la concentration initiale en β-carotène.

Pour les échantillons additionnés des différents extraits, nous avons adopté une démarche qui consiste à :

1. Déterminer la vitesse de dégradation du β-carotène en absence d'extrait ($\mathbf{V_0}$) à partir de la courbe 49 connaissant la teneur initialement présente dans les différents échantillons.
2. Tracer sur la même figure les courbes représentant la variation du rapport de la vitesse de dégradation de β-carotène dans les échantillons additionnés des extraits ($\mathbf{V}$) et $\mathbf{V_0}$

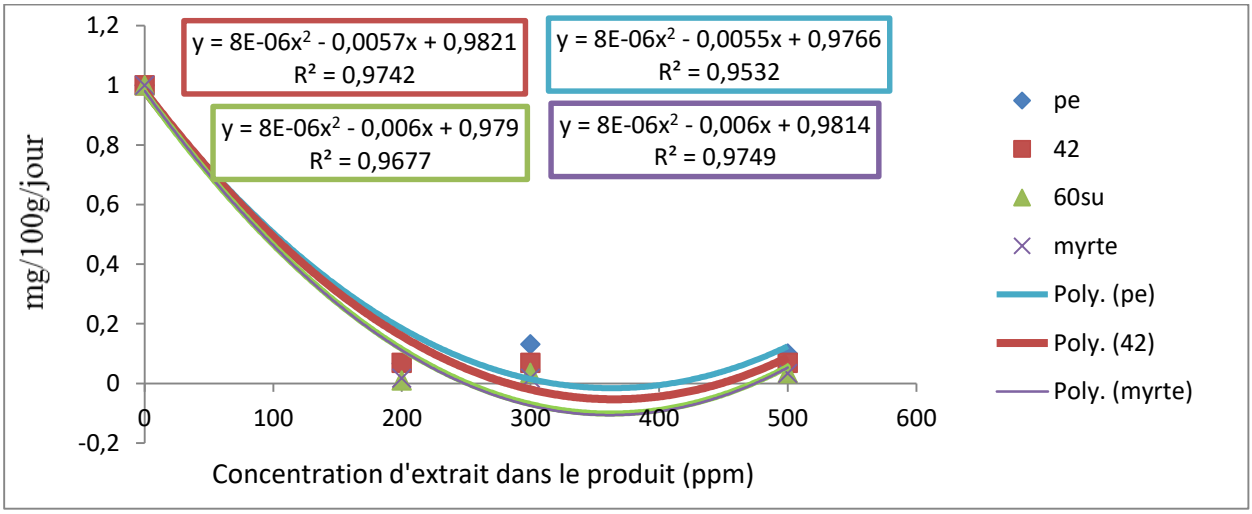


Figure 49. Variation de la vitesse de dégradation du β-carotène en fonction de la concentration des différents extraits dans le produit

Les différentes courbes de la figure 49 présentent des allures décroissantes, caractérisées par une chute importante du rapport de vitesse en passant de 0 à 200 ppm d'extrait.

Au-delà de 300 ppm, nous constatons une légère augmentation du rapport de vitesse mais qui reste inférieure à 0,2 (V_0=50*V).

Les différentes courbes sont proches traduisant un comportement assez similaire. La courbe relative à l'échantillon additionné d'huile essentielle de myrte se situe au-dessous des autres

courbes, donc on peut conclure au préalable que l'huile essentielle de myrte est l'extrait le plus efficace pour la préservation du β-carotène.

A même concentration, nous pouvons classer les échantillons contenant les extraits de myrte et de *Pistacia* selon leur efficacité à préserver le β-carotène comme suit : myrte>60su>42>Pe.

III.1.2.2. Variation de l'indice de peroxyde

Les figures 50, 51, 52, 53 et 54 représentent la variation de l'indice de peroxyde durant l'entreposage à 44°C de l'huile de beurre additionnée des extraits et de β-carotène.

L'hydro-peroxyde est le produit primaire de l'oxydation des lipides. Par conséquent, la détermination de la valeur de peroxyde peut être utilisée comme un indice d'oxydation au cours d'un stade primaire de cette réaction [143].

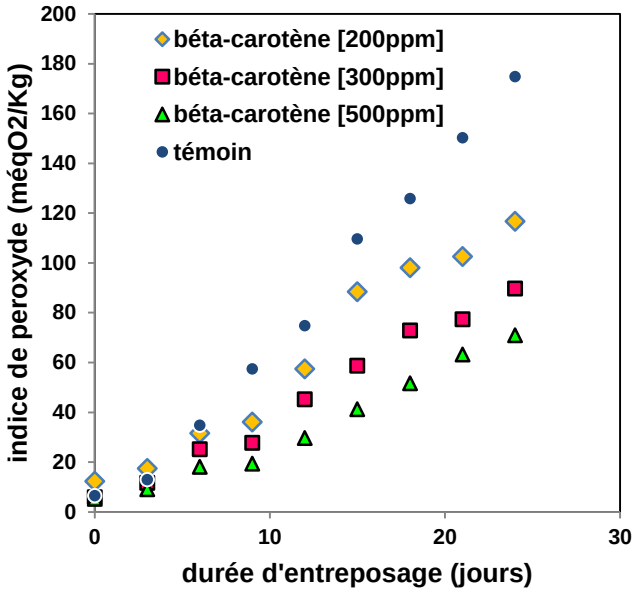


Figure 50. Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration de β-carotène dans le produit

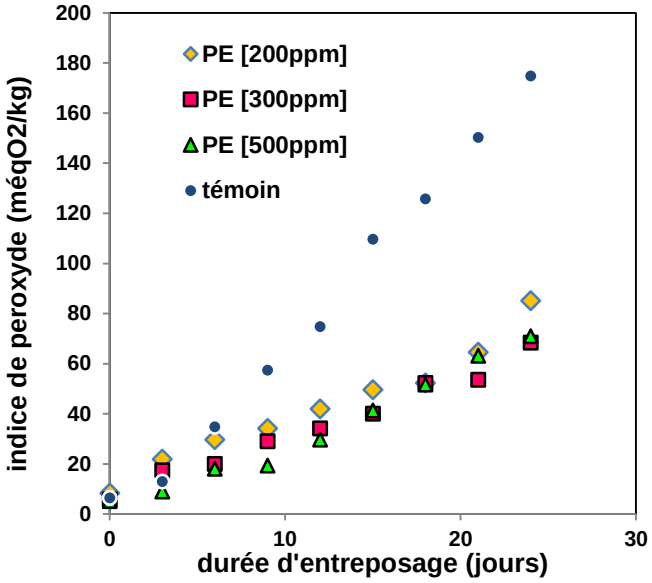


Figure 51. Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration d'extrait de *Pistacia* dans le produit

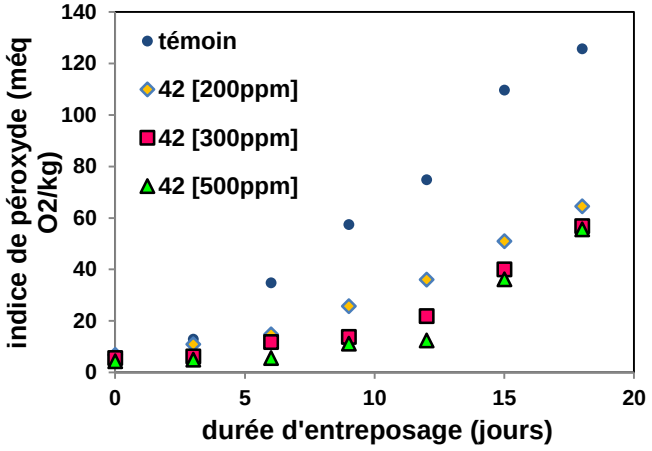


Figure 52. Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration de l'huile essentielle de *Pistacia*

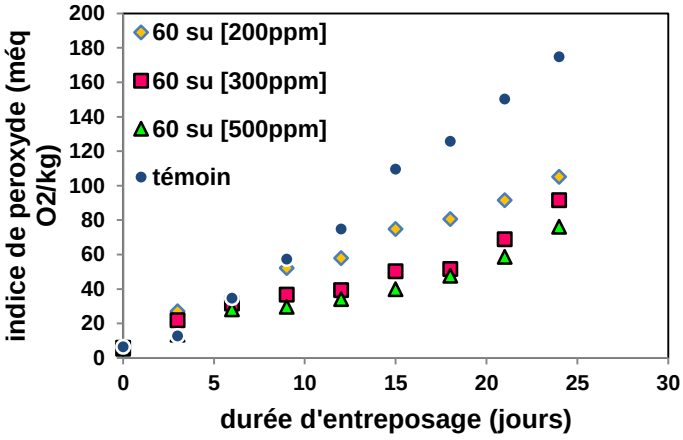


Figure 53. Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration de l'huile essentielle de Myrte

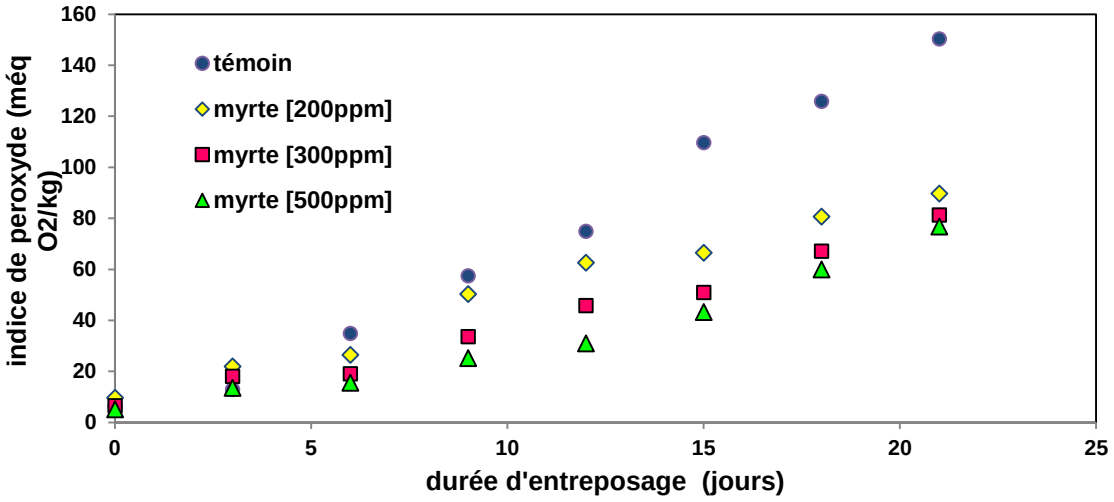


Figure 54. Variation de l'indice de peroxyde en fonction de la concentration d'extrait de Myrte dans le produit

L'indice de peroxyde croit en fonction du temps. L'ajout de différents extraits et du β-carotène s'accompagne d'une réduction de cette croissance. L'allure linéaire des différentes courbes nous ramène à supposer que la cinétique de formation des peroxydes est d'ordre zéro. Les constantes de vitesse, ainsi que les coefficients de corrélation sont présentées dans le tableau 44.

Tableau 44 : Estimation de la constante de cinétique de formation des peroxydes pour les différents échantillons et à différentes concentrations dans le produit

Echantillon	k (mg/100g/jour)	R^2
Béta-carotène		
500ppm	2,859	0,976
300ppm	3,662	0,986
200ppm	4,769	0,960
Témoin	7,331	0,990
PE : Pistacia CO_2		
500ppm	2,859	0,976
300ppm	2,411	0,981
200ppm	2,752	0,958
Témoin	7,331	0,990
42 : huile essentielle de *Pistacia*		
500ppm	2,657	0,841
300ppm	2,753	0,857
200ppm	3,263	0,954
témoin	7,041	0,980
60su : huile essentielle de Myrte		
500ppm	2,595	0,956
300ppm	2,985	0,934
200ppm	3,909	0,988
témoin	7,331	0,990
Myrte= **extrait de Myrte par CO_2**		
500ppm	3,263	0,943
300ppm	3,479	0,978
200ppm	3,911	0,979
témoin	7,194	0,986

Ces résultats contredisent les résultats d'étude réalisée par Samet-Bali et al. [144], portant sur le beurre tunisien traditionnel « zebdadiari ». Le produit sujet de cette étude a montré une stabilité oxydative intéressante qui se manifeste par un temps d'induction de la réaction de formation de peroxyde de 14 jours à 60°C pour un produit exposé à l'air. Le temps d'induction est le temps requis pour que la réaction atteigne un niveau détectable où le taux d'oxydation varie brutalement. Fearon et al. [145] ainsi que Karabulut et al. [146], ont rapporté aussi, dans le cadre d'une étude portant sur l'huile de beurre préparée dans des conditions similaires à celles relevées dans la présente étude, que le produit est caractérisé par une stabilité oxydative intéressante avec un temps d'induction de 16 jours à 60°C. Cette différence s'explique par le fait que le beurre qui a servi à la préparation de nos échantillons était réfrigéré durant trois semaines à 6°C depuis la date de production, ainsi qu'au cours de l'étape de préparation, les échantillons ont subi un traitement thermique assez sévère (60°C pendant plus qu'une heure). Afin de comparer l'efficacité des différents extraits à réduire la vitesse de formation de peroxyde, nous avons tracé sur la figure ci-dessous la variation de la vitesse de formation de peroxyde en fonction de la concentration des extraits.

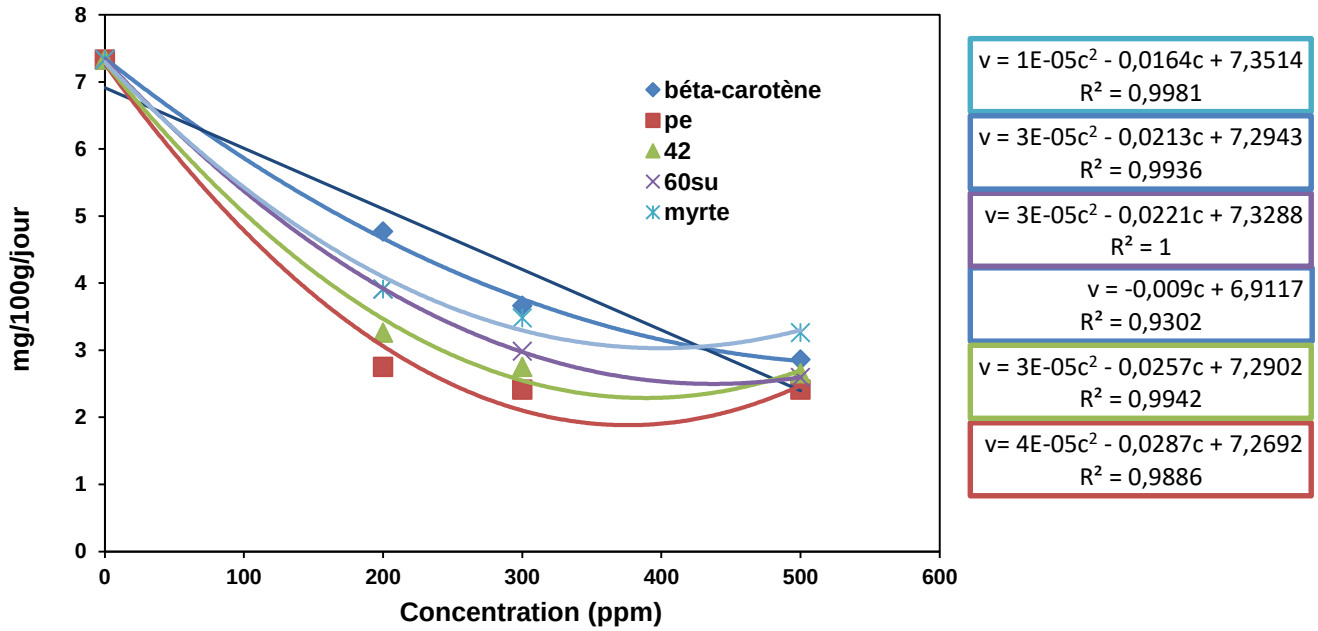


Figure 55. Variation de la vitesse de formation de peroxyde en fonction de la concentration des extraits

Les différentes courbes présentent une allure décroissante convexe, caractérisé par une chute importante pour l'intervalle de concentration s'étendant de 0 à 300 ppm, et des variations moins importantes pour des concentrations supérieures à 300ppm.

A même concentration, nous pouvons classer les échantillons selon l'efficacité à réduire la vitesse de formation de peroxyde comme suit : PE> 42>60SU> Myrte>β-carotène.

Nous constatons que cet ordre est l'inverse de celui précédemment trouvé dans le cas du β-carotène.

L'augmentation de la concentration du β-carotène dans la fourchette [200 à 500 ppm], améliore la stabilité du produit face à la réaction d'oxydation. Cette constatation contredit celle rapportée par [146] dont le travail porte sur les triglycérides de l'huile de beurre. Karabulut et al. [146] a constaté une activité pro-oxydante du β-carotène de plus en plus importante en augmentant la concentration de ce dernier dans la fourchette [5 à 50 µg/g].

L'activité pro-oxydante du β-carotène à des concentrations élevées, s'explique par sa dégradation plus importante accompagnée par la libération, de ces dérivés époxydes, amorçant la chaine d'oxydation des lipides [147].

Pour l'étude des spectres UV, nous avons choisi un exemple des spectres pour l'échantillon additionné de β-carotène pris à différentes dates d'entreposage, et un exemple des spectres d'échantillons d'extrait de *Pistacia* obtenus par CO_2 supercritique (PE) pris aussi à différentes dates d'entreposage. Le choix de l'échantillon où nous avons ajouté l'extrait de Pistacia issu par extraction avec CO_2 supercritique été choisi après l'analyse de sa bande d'absorbance qui est la plus large parmi les différents extraits.

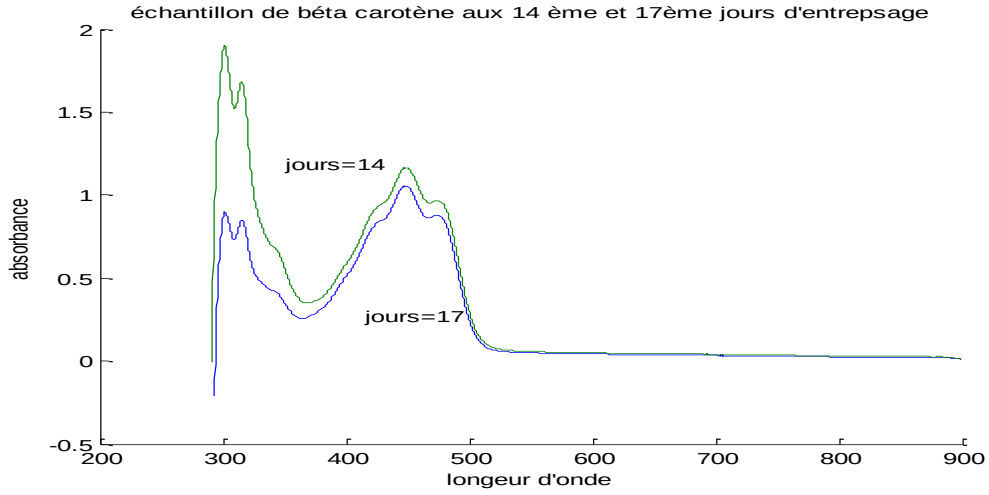


Figure 56. Spectre d'absorbance de β-carotène pris à différentes dates d'entreposage en utilisant l'extrait de Pistacia avec CO_2 supercritique

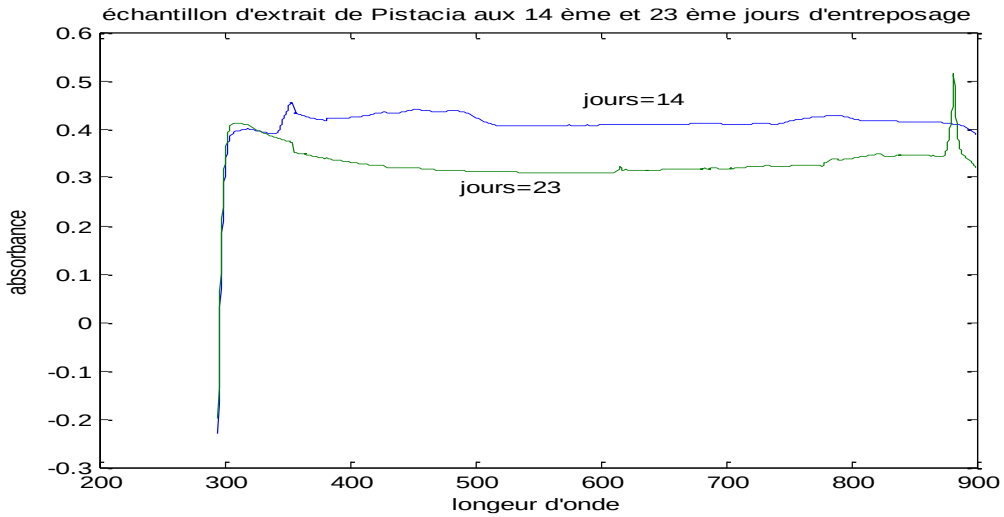


Figure 57. Spectre d'absorbance d'extrait de *Pistacia* pris à différentes dates d'entreposage

D'après ces spectres, nous pouvons constater que pour les deux échantillons, nous remarquons l'absence d'absorbance dans la gamme UV, et ceci quel que soit la date de prélèvement. La même observation a été notée pour les autres échantillons nous pouvons expliquer cette observation par l'absence des diènes-conjugués produits d'oxydation caractérisés par des bandes d'absorbance dans l'UV.

L'absence des diènes-conjugués, n'est pas un signe d'un degré d'oxydation faible mais il est plutôt dû à la faible teneur d'acides gras insaturés dans l'huile de beurre.

Au cours du stockage nous signalons la réduction des pics d'absorbances. Pour le cas de l'échantillon de β-carotène, nous notons une réduction du pic correspondant situer aux alentours de 400nm, gamme relative à l'absorbance des β-carotènes, cette constatation confirme les résultats relatifs aux taux de β-carotène.

La large gamme d'absorbance de l'échantillon PE s'explique par sa richesse en différents composés phénoliques dont l'absorbance se situe généralement dans la gamme de visible.

III.1.3. Test Rancimat

Pour le test Rancimat, nous avons uniquement comparé le temps d'induction, des différents échantillons à la même concentration (500ppm). Vu que les deux tests précédents affirment la proportionnalité entre la concentration d'antioxydant et le degré d'inhibition de la réaction d'oxydation. La figure ci jointe représente la variation de temps d'induction pour les différents échantillons.

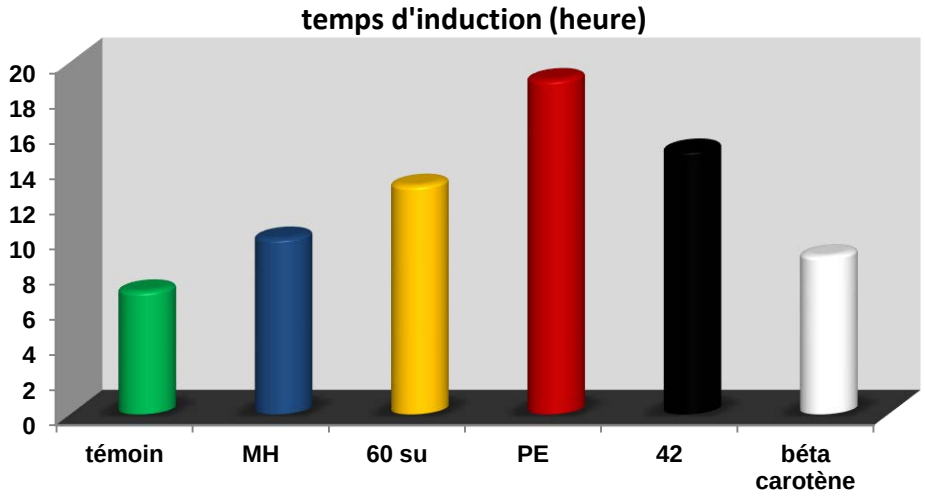


Figure 58. Variation du temps d'induction pour les différents échantillons pour une concentration de 500 ppm

Les résultats de ce test confirment les résultats précédemment trouvés, attribuant à l'échantillon extrait de *Pistacia* obtenu par CO_2 supercritique la plus grande capacité de stabiliser la matière grasse.

III.1.4. Conclusion

Au terme de cette étude portant sur l'effet des additifs naturels sur la conservation de l'huile de beurre, nous pouvons émettre les conclusions suivantes : l'addition des extraits naturels de Myrte et de *Pistacia* est avérée meilleurs que l'enrichissement de la matière grasse en β-carotène antioxydant naturellement présent dans le produit. L'extrait de *Pistacia* par CO_2supercritique (PE), présente la meilleure capacité à stabiliser la matière grasse face à l'oxydation. Les spectres UV visible traduisent la richesse de cet extrait en composés phénoliques. L'huile de beurre est un produit non commercialisé en Tunisie, mais étant donné qu'il dérive du beurre nous pouvons prévoir la conservation de ce dernier en ajoutant des extraits. Les extraits naturels de *Pistacia* (PE) ont montré une activité intéressante, mais afin de l'adopter comme alternative de l'additif utilisé, il est nécessaire de passer par l'évaluation de la rentabilité de ce produit.

III.2. Aromatisation des yaourts par l'eau florale du Myrte et répercussion sur le déroulement de la fermentation et la qualité organoleptique de produit fini : Influence de l'ajout des extraits naturels sur la cinétique de coagulation

III.2.1. Introduction

Bien que la fabrication et la consommation des laits fermentés remonte à la plus haute antiquité, les progrès réalisés dans l'élaboration, la standardisation et la diversification des yaourts correspondent pour la plupart aux efforts de recherche entrepris au cours du siècle dernier.

Avec les progrès technologiques réalisés, le yaourt apparaît comme un produit laitier très digeste qui possède une grande valeur nutritionnelle et qui est apprécié pour son goût et sa

texture. C'est un produit, consommé la plupart du temps comme dessert, très prisé de par le monde, car il convient à toutes tranches d'âge et même chez les sujets intolérants au lait.

Traités au départ comme un déchet de la distillation des huiles essentielles, les hydrolats sont aujourd'hui de plus en plus présents sur le marché des produits naturels. Les praticiens en aromathérapie les utilisent souvent en complément d'une thérapie par les huiles essentielles.

Malgré la faible proportion en principes actifs, les hydrolats présentent certaines activités pharmacologiques et biologiques intéressantes. Leur popularité auprès des consommateurs est principalement due à leur non-toxicité par rapport aux huiles essentielles du fait de leurs faibles teneurs en principe actifs. Ils sont de ce fait beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles ce qui en fait un produit de choix pour les aromathérapeutes.

Nous nous proposons d'étudier l'effet de l'ajout de l'eau florale sur la qualité de yaourt, en se référant au vin concentré qui est très riche en polyphénols.

III.2.2. Effet de l'ajout de l'eau florale et du vin sur les différents paramètres physico-chimiques du yaourt

III.2.2.1. Effet de l'ajout de l'eau florale sur le pH et l'acidité

Des mesures physico-chimiques, ont été réalisées pour étudier l'impact de l'ajout des extraits naturels sur le pH et l'acidité du lait durant la fermentation. Les résultats sont regroupés figures 59 à 61.

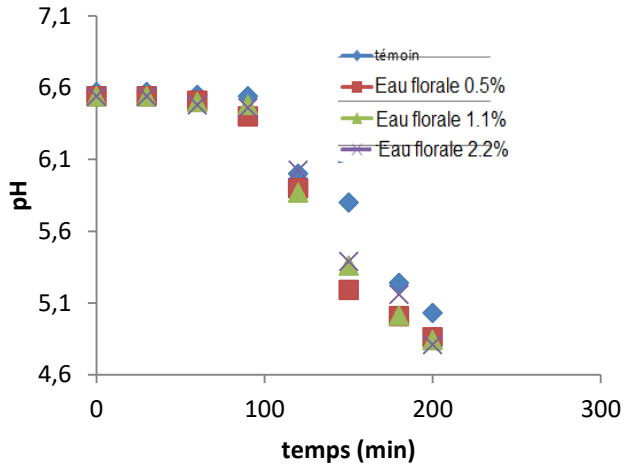


Figure 59. Variation de pH pour l'échantillon de myrte au cours de la fermentation

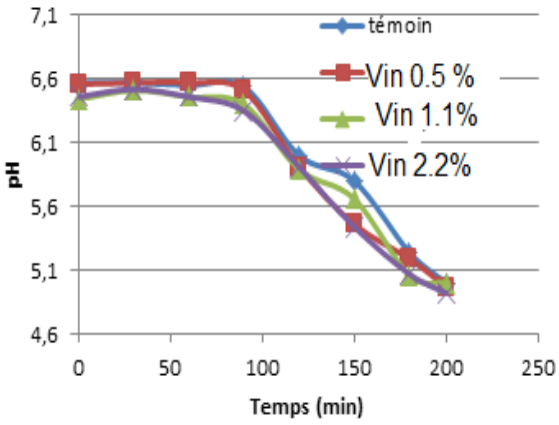


Figure 60. Variation de pH pour les échantillons de vin au cours de la fermentation

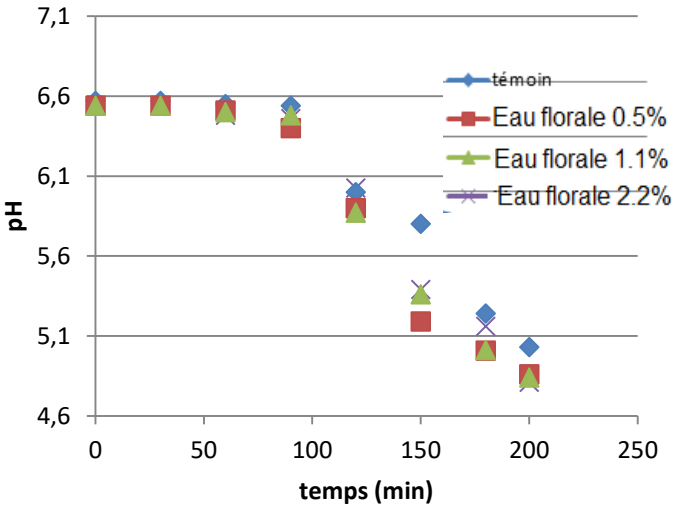


Figure 61. Variation de l'acidité pour les échantillons de myrte au cours de la fermentation

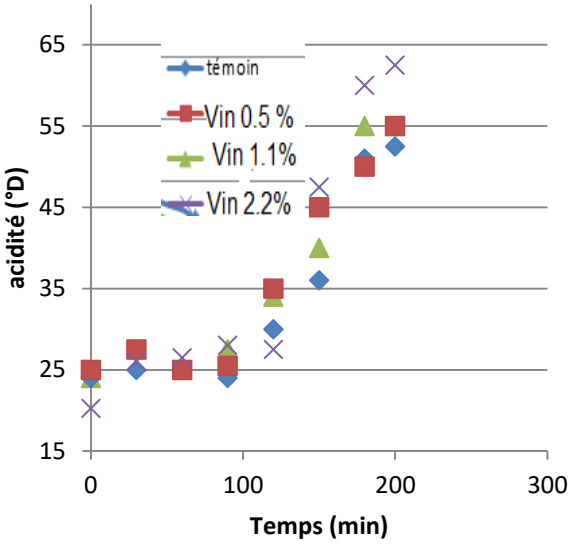


Figure 62. Variation de l'acidité pour les échantillons de vin au cours de la fermentation

Pour la variation du pH, quel que soit le type d'extrait ou sa concentration, tous les échantillons présentent un comportement similaire, les différentes courbes présentent un palier au début de la fermentation suivi d'une partie descendante à un taux de décroissance constant. La variation de pH est similaire à la courbe sigmoïde de la croissance microbienne.

Les valeurs de la durée de la phase de latence λ (min) et le taux de décroissance μ (min^{-1}), de deux types d'extrait sont présentées dans le tableau suivant.

Tableau 45: Valeurs de la durée de la phase de latence λ (min) et du taux de décroissance μ (min^{-1}), de deux types d'extrait

Paramètres / Echantillon	λ (min)	μ (min^{-1})	pH_0
Extrait phénolique du vin	90	0,014	6
Eau florale de myrte	82	0,011	7

En se basant sur la variation du pH, nous pouvons constater que la variation de la concentration d'extrait naturels ajouté n'a pas entrainé une variation importante dans le déroulement de la fermentation, par contre l'ajout des deux extraits a touché aux métabolismes des bactéries lactiques, puisque on a noté l'augmentation du taux de croissance de 0,013 unité/min pour l'échantillon témoin contre 0,014 unité/min pour les échantillons additionnés des extraits naturels. Amirdivani et al. [148] ont reporté des résultats similaires dans le cadre d'une étude qui s'intéresse à l'effet de l'ajout des extraits naturels aqueux de menthe poivrée, de basilic

tropical sur la qualité du yaourt. Les extraits sont obtenus par macération et ils sont ajoutés au lait avant fermentation à raison de 100 ml par 850 ml du lait. S Amirdivani et al. [148] ont constaté que le taux de croissance du pH est important pour la période de fermentation s'étendant entre 90 et 180 min pour tous les échantillons, ils ont constaté aussi que ce taux est plus important pour les échantillons additionnés des extraits naturel des plantes avec une valeur de 0,6 unité/heure contre une valeur de 0,3 unité/heure pour l'échantillon témoin. La fermentation lactique s'accompagne, d'une production des acides organiques par les bactéries lactiques. Le ferment utilisé est doté d'une activité symbiotique de ces deux groupes de bactéries, les Lactobacillus spp. Lactis et grâce à leur activité protéolytique produisent des acides aminés et des petits peptides qui stimulent la croissance des Streptococcus. Thermophilus [149] qui à leur tour secrètent des métabolites, tel que le CO_2 et l'acide formique stimulant la croissance des Lactobacillus [150]

L'acidité titrable est la quantité totale des ions d'hydrogène à l'exception de ceux liés à des ions alcalins. La détermination de l'acidité est mieux appropriée pour l'évaluation de la capacité fermentaire des bactéries [151].

Les acides organiques produits dans les yaourts (acide lactique, citrique, formique, acétique, butyrique) sont corrélés linéairement à l'acidité titrable [152].

Les courbes relatives, à la variation de l'acidité titrable décrivent aussi les deux phases de la croissance microbienne, mais contrairement au cas du pH, les parties croissantes des courbes ne sont pas confondus, donc on peut en déduire, à première vue que l'acidification dépend de la concentration et de la nature de l'extrait ajouté.

Les paramètres (λ (min) ; μ (min^{-1}) ; acidité initiale) relatifs aux différents échantillons sont présentés dans le tableau 46.

*Tableau **46: Les paramètres (λ (min) ; μ (min^{-1}) ; acidité initiale) relatifs aux différents échantillons***

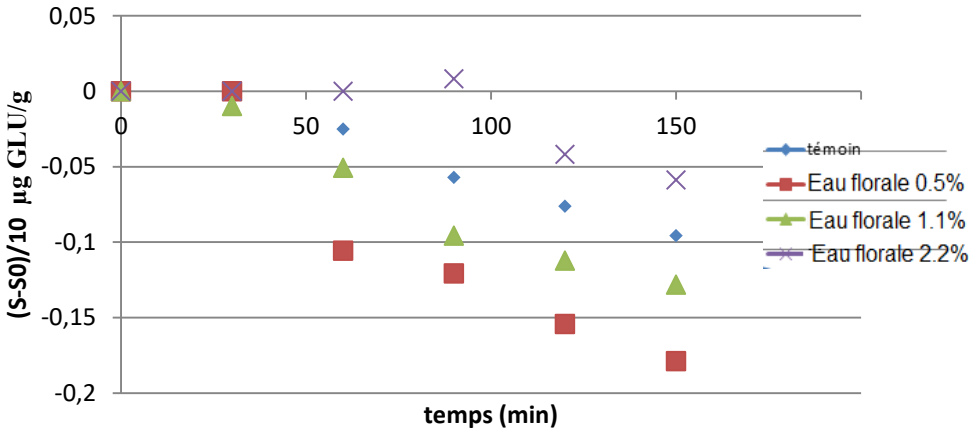
Paramètres / Echantillon	λ (min)	μ (min^{-1})	Acidité(D_0)
Extrait phénolique du vin			
0	90	0,279	24
0,5 %	90	0,265	25
1%	90	0,273	24
2%	90	0,364	20,25
Eau florale de myrte			
0	90	0,289	24
0,5%	90	0,354	25
1%	90	0,244	27,5
2%	90	0,302	25

Contrairement aux résultats reportés par Mirdivani [148], les différentes courbes représentent une allure sigmoïdal inversé. La durée de la phase de latence est la même quel que soit l'échantillon, cette valeur est égale à celle précédemment trouvé en étudiant la variation du pH. Pour les échantillons additionnés d'extrait du vin, l'échantillon contenant 2% du phénol du vin présente le taux de croissance le plus important avec une valeur de 0,364 ($°D*min^{-1}$) c'est aussi

la valeur la plus importante pour l'ensemble des échantillons. L'addition de l'eau florale, s'accompagne aussi d'une augmentation du taux de croissance de l'acidité, l'échantillon contenant 0,5% d'eau florale est l'échantillon qui représente la croissance la plus importante. Les différences observées entre les échantillons additionnés de deux extraits sont évidents vu que chacun de deux extraits objets de cette étude a une composition bien spécifique et distincte. La variation de la valeur de l'acidité et du pH, traduisant une modification qui touche au métabolisme microbien ; ceci n'est le pas de cas des extraits du thé additionné au yaourt et qui a fait l'objet de l'étude de Jaziri et al. [153]. Cette étude aboutit au fait que l'addition d'extrait de thé a touché uniquement à la viabilité des bactéries à la fin de la fermentation et au cours de stockage.

III.2.2.2. Effet de l'ajout de l'eau florale sur la teneur en sucre réducteurs

Pour mieux visualiser, l'effet de l'ajout des extraits, sur le métabolisme des bactéries lactiques nous avons tracé les courbes présentant la variation de la teneur des sucres réducteurs (substrat de fermentation). Les figures 63 et 64 représentent la variation de $(S-S_0)/10$, avec S : représente la concentration en sucre réducteur des échantillons additionnés des différentes concentrations en extraits naturels et S0 : représente la concentration initiale des sucres réducteurs dans l'échantillon.



.

Figure 63. La variation de (S-S0) /10 en fonction du temps pour les différents échantillons enrichis en eau florale

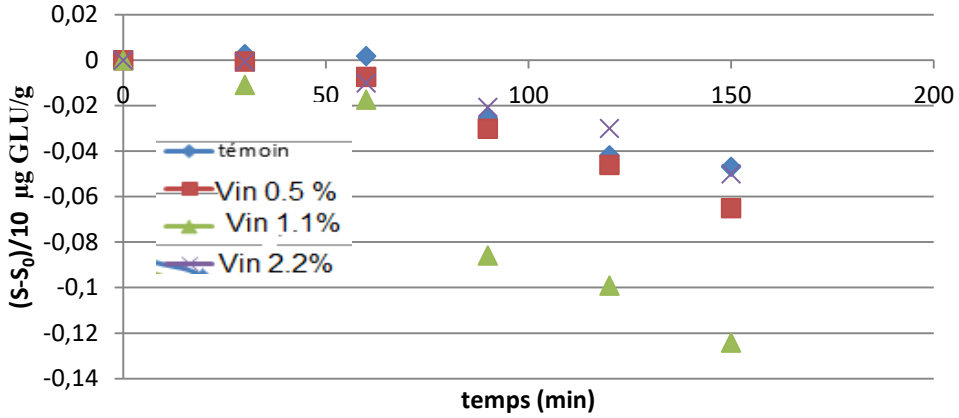


Figure 64. La variation de (S-S0) /10 en fonction du temps pour les différents échantillons enrichis en vin concentré

Les deux courbes présentent des allures plutôt linéaires contrairement à la variation de l'acidité et du pH caractérisé par des allures sigmoïdes.

Les courbes correspondantes aux différentes concentrations, sont assez éloignées les unes des autres traduisant une influence notable des extraits ajoutés sur le métabolisme des sucres par les bactéries lactiques.

Durant les 50 premières minutes de la fermentation, la variation de la concentration n'est pas très importante. Les taux de décroissance de la teneur en sucre réducteur des différents échantillons après une heure de fermentation sont constants. Les valeurs de ces taux figurent dans le tableau 47

Tableau 47: Taux de décroissances de la teneur en sucre réducteur des différents échantillons

Paramètre / Echantillon	**τ (µg/g*min)**
Phénols du vin	
0	0,005
0,5 %	0,006
1,1%	0,011
2,2%	0,004
Eau florale de myrte	
0	0,007
0,5%	0,007
1,1%	0,008
2,2%	0,008

Les taux de variation de la teneur en sucre pour la période de fermentation qui s'étend de la 60^{éme} minutes à la 150 ^{éme} minutes sont très faibles (<<1). Une prolongation de suivi a pu nous amener à trouver des valeurs plus importantes. Cependant, durant cette première période de fermentation nous avons constaté que l'échantillon additionné d'extrait phénolique du vin a présenté un taux de décroissance de la teneur en sucre très élevé comparé à l'ensemble des échantillons. Ces résultats confirment ce que nous venons de constater précédemment, sur l'effet des extrait ajoutés sur le métabolisme des bactéries lactiques au cours de la fermentation. L'ajout de ces extraits a favorisé le catabolisme des sucres et l'anabolisme des acides organiques.

McCue et al. [154] ont montré que les antioxydants phénoliques ne sont pas affectés par la microflore du yogourt en cours de production de yaourt à base de lait de soja en présence de ferment de kéfir. Dans une autre étude, Kachouri et al. [155], ont mentionné que certaines bactéries lactiques possédaient une activité anti-oxydante notable, ce qui permet la conservation de catéchines au cours de la fermentation du yaourt. Par conséquent, les composés phénoliques des extraits naturels dans le yogourt seront en mesure de maintenir leurs activités antimicrobiennes et antioxydantes et pourraient même constituer de nouveaux colorants naturels et être considéré comme " fonctionnels" [156].

Parallèlement au catabolisme microbien, les polyphénols alimentaires non absorbés et leurs métabolites peuvent se comporter comme des activateurs ou des inhibiteurs de la croissance bactérienne en fonction de leur structure chimique, (substitutions dans le cycle phénolique) et de leur concentration [157-158].

Ces métabolites inhibent sélectivement la croissance des agents pathogènes et stimulent la croissance des bactéries consommables, y compris aussi des probiotiques reconnus [159-160] influençant ainsi la composition de la flore microbienne [161].

Des études menées chez les humains et les animaux (rats, porcs et poulets) ont révélé une augmentation de la croissance de bactéries bénéfiques potentielles telles que Lactobacillus et une diminution d'Entorabacteriaceae et les Clostridium, entre autres groupes bactériens, après l'administration de monomère flavone-3-ols de thé vert [162], d'extrait de pépins de raisin [163]. Tous ces résultats donnent plus d'intérêt à l'ajout des extraits naturels au lait ou aux produits laitiers comme les yaourts pour assurer des effets bénéfiques sur la santé et une protection contre les micro-organismes d'altération.

III.2.2. Résultats des analyses sensorielles

La liste des échantillons testés comporte :

Témoin : yaourt nature sucré, yaourt+ 1% extrait du vin, yaourt + 2% extrait du vin

Yaourt+myrte 0,5%, yaourt+myrte 1%

10 panélistes, ont été sélectionnés pour mener à bien cette évaluation sensorielle où l'analyse est menée en suivant la procédure décrite précédemment dans la partie Materials et Méthodes. Les qualités organoleptiques évaluées concernent le goût, l'arôme et la texture ainsi que l'appréciation globale du produit.

Chaque attribut est mesuré selon une échelle d'intensité universelle de 0 à 15, où 0=non détecté et 15=extrêmement fort. Pour l'appréciation globale, nous avons adopté la même échelle avec 0=non apprécié et 15=très apprécié. Les résultats de cette analyse descriptive sont représentés dans le tableau 48 et le graphique 65.

Tableau 48 : Moyenne des notes attribuées par les panélistes au différent échantillon

Critères	Témoin	Yaourt+ 1% extrait vin	Yaourt+ 2% extrait vin	Yaourt+ Myrte 0,5%	Yaourt+ 1% myrte
Goût sucré	13,25	12,5	12	11,8	13
Goût salé	2,2	1	2,5	3	3
Goût astringent	0	1	2	0	0
Arrière-goût	1,5	10,8	10	12	13
Goût de lactosérum	15	13,2	13	3	2
Goût de cuit	1	1	1	1	1
Épaisseur	12	13	14	13	14
Quantité de lactosérum libre	2	1	1	1	1
Intensité de l'odeur	11	12	13	15	15
Appréciation globale	10	12	12	15	15

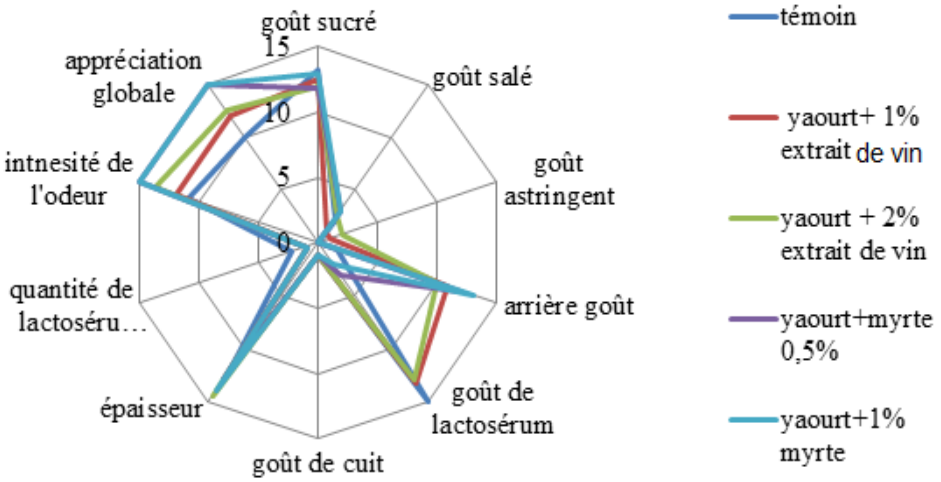


Figure 65 : Profil sensoriel des échantillons de yaourt enrichis d'extrait de vin et d'eau florale de myrte

Au cours des analyses préliminaires, l'échantillon contenant 2% d'eau floral de myrte a été omis de la liste des échantillons testé à cause de son goût un peu amer et de son odeur très prononcé qui ont été mal appréciés.

Pour les critères relatifs au goût, on constate que la goût sucré des échantillons ne différents pas fortement, cependant des goûts salé et astringents peu prononcés ont été notés pour les échantillons additionnés des extraits naturels, avec des scores de 3 pour les deux échantillons additionnés d'eau florale de myrte attribué au goût salé, de 2 pour l'échantillon additionné d'extrait phénolique du vin attribué à l'astringence.

D'après les profils des différents échantillons, nous constatons qu'à l'exception de leur astringence et leur arrière-goût, un peu prononcés les différents échantillons additionnés des extraits naturels présentent des critères meilleurs que l'échantillon témoin surtout pour les critères relatifs à la texture. L'amélioration de la texture peut être attribuée à l'accélération de la fermentation et aux interactions avec les protéines du lait des constituants de ces extraits.
Des faibles scores ont été attribués par l'ensemble des panélistes, aux échantillons additionnés pour la perception du goût du lactosérum.
L'ensemble des panélistes ont attribué le score final (15), pour l'intensité de l'odeur aux échantillons additionnés d'eau florale de myrte. Ce sont aussi les échantillons les plus appréciés par l'ensemble des panélistes.
Les échantillons additionnés de 2% d'eau florale de myrte ou d'extrait phénolique du vin, sont les échantillons considérés les plus épaisses avec un score de 14. Les échantillons additionnés des extraits naturels n'étaient pas le siège d'un phénomène de synérèse.

III.3. Stabilisation des filets de sardine au cours de l'entreposage réfrigéré, par ajout des antioxydants naturels

III.3.1. Introduction

Les produits à base de plantes sont les alternatifs pour remplacer les conservateurs chimiques, leur utilisation dans les aliments répond aux demandes des consommateurs pour des produits naturels avec les minimum de transformation tout en offrant des bienfaits supplémentaires à la fois à l'aliment et au consommateur [164].

De nombreuses stratégies ont été développées pour empêcher l'altération et les développements des micro-organismes pathogènes au sein de l'aliment, mais il y a encore un besoin de nouvelles méthodes pour les réduire davantage ou les éliminer.

D'autre part, une demande accrue à la réduction d'utilisation des additifs alimentaires synthétiques et des produits qui touchent à l'environnement, est observée.

Cette tendance a également conduit à des recherches sur le développement de nouveaux matériaux biodégradables d'emballage à partir de polymères naturels pour réaliser une substitution partielle de l'emballage plastique. Ces films peuvent être obtenus à partir de plusieurs sources (polysaccharide, lipide, protéine). Certaines études ont considéré l'incorporation d'extraits aqueux dans la formulation de films comestibles. La chair des poissons est connue par sa haute valeur nutritive, en raison de sa teneur élevée en protéines, en phospholipides, en acides gras polyinsaturés (AGPI) et en minéraux indispensables [165]. Néanmoins, les filets des poissons sont un produit très périssable [166]. L'altération des poissons est un phénomène compliqué durant lequel des changements microbiologiques, physiques et chimiques inter-réagissent. L'activité de ces propres enzymes et les réactions chimiques sont généralement responsables de la perte initiale de la fraîcheur des poissons, malgré que l'activité métabolique des microorganismes soit impliquée durant tout le processus de détérioration de la qualité [167].

III.3.2. Variation de la teneur en ABVT au cours de l'entreposage réfrigéré des poissons

L'ABVT est l'un des indicateurs les plus couramment utilisés pour évaluer le degré de détérioration des produits de la mer. L'ABVT représente la somme de l'ammoniac, de la diméthylamine (DMA), de la triméthylamine (TMA) et d'autres composés azotés volatils. La DMA et la TMA sont les produits de dégradation de l'oxyde de triméthylamine (TMAO), une molécule typique du poisson qui a un rôle important dans la régulation osmotique. Le DMA est produit par des enzymes endogènes et la TMA est généré par des enzymes bactériennes [168]. La teneur des échantillons en ABVT croit au cours du stockage.

L'échantillon contenant l'huile essentielle de myrte ainsi que l'échantillon contenant la vitamine C, sont les échantillons qui ont présenté la variation en ABVT la moins importante. La teneur finale en ABVT après 7 jours de stockage réfrigéré de l'échantillon contenant la vitamine C est de 21 mgN /100g (mg d'azote/100g du poisson) et celle de l'échantillon contenant l'huile essentielle de myrte est de 23 mgN /100g contre 25 mgN /100g pour l'échantillon témoin.

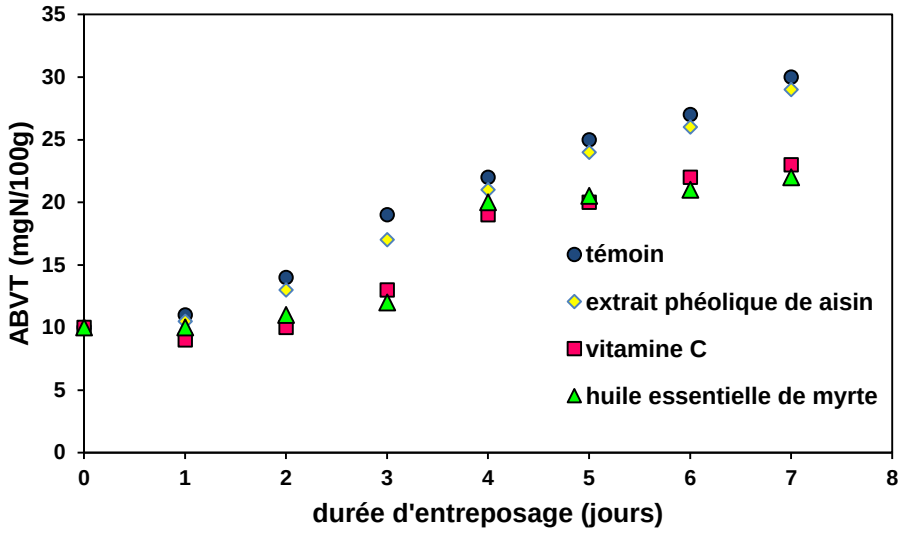


Figure 66. Variation de la teneur en Azote Basique Volatil Total (ABVT) des filets de sardine au cours de stockage réfrigéré (4°C)

Hozbor et al. [169], ont signalé l'augmentation de la teneur en ABVT du saumon de la mer au cours d'un stockage aérobique dans la glace à 0°C pendant 10 jours. Le contenu en ABVT des poissons fraîchement pêchés est généralement compris entre 5 et 20 mg N/100 g, et une teneur en ABVT de 30-35 mg N/100 g est généralement considéré comme la limite d'acceptabilité pour les poissons [170]. Il a été suggéré que le contenu en ABVT est affecté par l'espèce, la saison, la zone de la pêche, l'âge et le sexe des poissons [171].

Li et al. [172] ont étudié l'effet de l'utilisation des extraits de romarin et des polyphénols de thé comme conservateur des poisons rouges (Carassiusauratus) réfrigérés pendant 20 jours. Ils ont constaté que l'ajout des extraits naturels a permis de réduire la valeur de l'ABVT dans les échantillons du poisson au cours de l'entreposage par rapport à l'échantillon témoin, ce qui est le cas aussi de nos échantillons. Les taux de croissance de la valeur d'ABVT trouvé dans le cadre de cette étude sont de 1,3305 mg N par 100 g de poisson par jour pour l'échantillon additionné des polyphénols de thé et de 1,1755 mgN par 100 g de poisson par jour pour l'échantillon additionné d'extrait de romarin.

Les taux de croissance de l'ABVT dans le cas de nos échantillons sont de 2,71 mg N par 100 g de poisson par jour pour l'échantillon additionné des composés phénoliques du vin et de 1,71 pour (mg N par 100 g de poisson par jour) pour les échantillons additionnés de myrte et de vitamine C.

Tous les échantillons ont une teneur en ABVT au-dessous de la valeur maximale de 35 mg N/100g de muscle (décision de la Commission 95/149/CE, 1995).

L'élévation de la valeur d'ABVT peut être utilisée comme indicateur de la contamination microbienne, une corrélation significative entre la valeur d'ABVT et la charge microbienne a été trouvée par Ahmad et al. [173] dans le cadre d'une étude qui a porté sur l'effet d'enrobage

à base de gélatine additionné d'huile essentielle de citronnelle sur la conservation des filets du poisson loup au cours de stockage réfrigéré.

Ces mêmes chercheurs ont aussi rapporté que la réduction de la valeur d'ABVT des poissons peut être associée à une réduction rapide de la flore microbienne ou une diminution de la capacité de désamination de composés azotés non protéiques, ou les deux.

III.3.3. Variation de l'indice de peroxyde au cours de l'entreposage réfrigéré des poissons

Les poissons gras tels que la sardine ont une valeur nutritionnelle intéressante. Ceci est principalement dû à leur teneur élevée en acides gras essentiels n-3 polyinsaturés tels que l'acide eicosapentaénoïque (20 :05) et l'acide docosahexaénoïque (22:6). Ces acides gras se sont avérés avoir des avantages potentiels pour la santé de l'homme [174]. Néanmoins, ils sont sensibles à l'oxydation, qui est associé à leur rancissement et la perte de leur valeur nutritive [175-176]. Outre les quantités élevées d'acides gras polyinsaturés, la présence des pigments de l'hème et des traces d'ions métalliques rend la chair du poisson sombre, particulièrement les poissons gras sujets à l'oxydation des lipides. Pour retarder une telle perte de la qualité, des antioxydants synthétiques ont été utilisés pour diminuer l'oxydation des lipides au cours du traitement et du stockage de poissons et produits de la pêche.

Les différents échantillons de filets de sardine sujets de cette étude, sont le siège d'une formation de peroxyde de plus en plus importante en prolongeant la durée de stockage réfrigéré (figure 67).

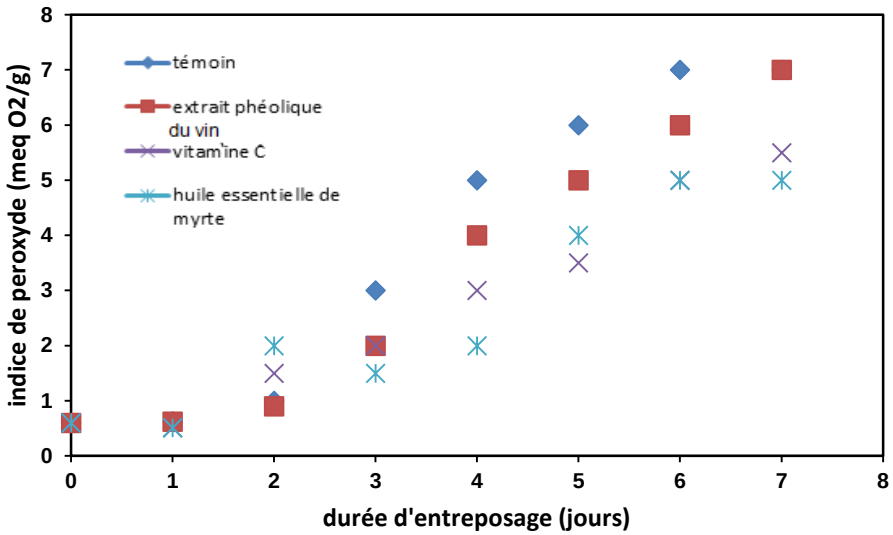


Figure 67. Variation de l'indice de peroxyde des lipides des filets de sardine au cours de stockage réfrigéré (4°C)

Après 7 jours de stockage la valeur d'indice de peroxyde des différents échantillons est comme suit : Témoin (7 méq O_2 /kg) ; vin (7 méq O_2 /kg) ; vitamine C (5 méq O_2 /kg) ; huile essentielle de myrte (5 méq O_2 /kg).

Tout au long, de la période de stockage, la vitamine C et le film contenant l'huile essentielle de myrte ont présenté la meilleure aptitude à retarder la formation des peroxydes.

Gimenez et al. [177] ont utilisé un extrait de romarin pour aider à préserver les filets de daurade à tête dorée (Sparus aurata) et le saumon (Salmosalar) et ont constaté que l'oxydation des lipides a été ralentie. Serdaroglu et al. [178] et Vareltzis et al. [179] ont également rapporté le retardement du phénomène d'oxydation lorsque l'extrait de romarin a été utilisé comme agent de conservation des sardines et des maquereaux hachés et congelés. Tsimidou et al. [180] ont étudié l'activité antioxydante de l'huile d'origan appliqué aux maquereaux et ont trouvé que le taux d'oxydation des lipides ralentit le taux d'oxydation lipidiques par rapport au taux obtenu à l'aide du romarin.

Il y a peu de rapports traitant des films alimentaires contenant des extraits de plantes naturelles et qui plus est, la plupart de ceux qui ont été publiés, mettent l'accent sur le physique, les propriétés chimiques et / ou antimicrobiennes des films, et non sur leurs effets antioxydants lorsqu'il est appliqué à des denrées alimentaires. Oussalah et al. [181] ont développé un film à base de protéines de lactosérum du lait enrichi en ajoutant de l'huile essentielle d'origan. Ils n'ont enregistré aucune protection contre l'oxydation du muscle contrairement aux conclusions rapportées ici pour le cas de film à base de gélatine incrémenté d'huile essentielle de myrte. La raison de cette différence pourrait être attribuée aux différentes natures de la viande et des lipides des poissons, étant donné que les lipides des poissons sont connus pour être plus fortement insaturés et en conséquence plus vulnérables à l'oxydation, et en effet, dans la même étude [181] les chercheurs ont rapporté des faibles niveaux d'oxydation.

III.3.4. Variation de l'indice de rétention d'eau au cours de l'entreposage réfrigéré des poissons

La capacité de rétention d'eau des différents échantillons décroit en fonction de la durée de stockage. L'échantillon enrobé de film à base de gélatine (témoins) présente la variation la moins notable comparé aux autres échantillons. La capacité de rétention d'eau de ce dernier passe de 85% à 52% après 7 jours contrairement à l'échantillon témoin dont la capacité de rétention d'eau est réduite à 30% à la fin de la période de suivi. Nous pouvons attribuer cette constatation au fait que l'enrobage joue le rôle d'une barrière permettant de mieux préserver le contenu de l'échantillon en eau.

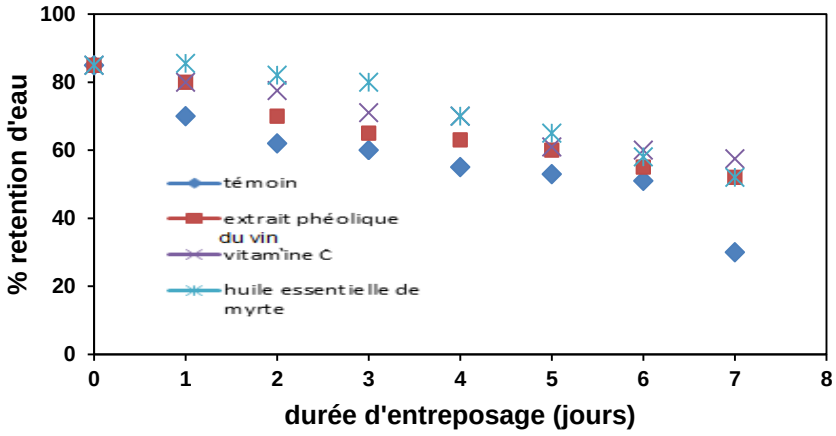


Figure 68. Variation de l'indice de rétention d'eau des filets de sardine au cours de stockage réfrigéré (4°C)

Les variations de la capacité de rétention d'eau des échantillons additionnés des conservateurs naturels (vitamine C, extrait phénolique du vin), sont aussi meilleures que l'échantillon témoin avec une valeur de 52% à la fin de la période de stockage pour les deux échantillons.

III.3.5. Résultats des analyses sensorielles

D'après les résultats des analyses sensorielles effectuées par le panel d'analyse sensorielle, nous avons tracé les courbes représentant les profils relatifs aux critères d'évaluation des filets de sardines avant et après cuisson (figure 69). Les critères avant cuisson portent sur l'aspect et l'odeur du produit. Alors que ceux après cuisson, sont relatifs à la texture et à la sensation en bouche. L'échantillon référence figurant sur les deux figures 54 et 55, est un échantillon de poisson frais n'ayant subi aucun traitement.

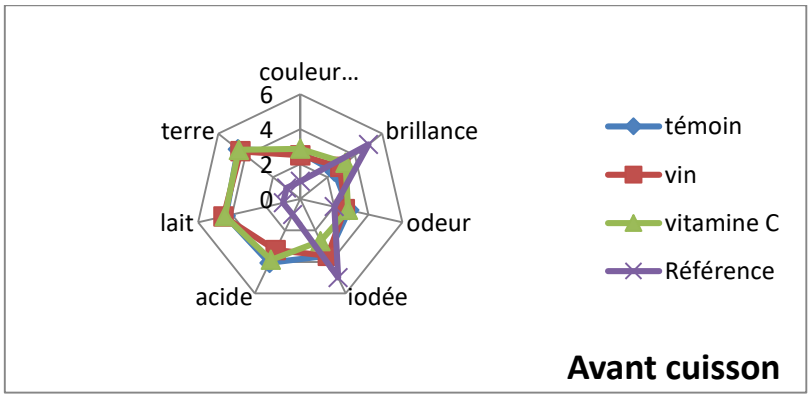


Figure 69. Profils sensoriels (odeur/ aspect) des différents échantillons du poisson avant cuisson

Tableau 49: Profils relatifs aux critères d'évaluation avant cuisson

Critères	témoin	vin	vitamine C	Référence (produit industriel)
couleur grise	2,68	2,5	2,87	1
brillance	2,5	2,93	3,31	5
odeur	2,87	2,62	2,81	2
iodée	3,62	3,62	2,68	5
acide	4,06	3,25	3,87	1
lait	4,37	4,5	4,43	1
terre	4,56	4,37	4,5	1

Les courbes relatives aux différents échantillons, sont assez proches raduisant des comportements similaires. Contrairement à l'échantillon frais caractérisé par une odeur iodé prononcé, une brillance très perceptible, les échantillons obtenus après stockage réfrigéré se caractérise par des odeurs traduisant l'altération du produit : acide, lait, terre, et une brillance moins perceptible. Les filets des poissons marinés dans la solution aqueuse d'extrait phénolique du vin rouge, présente une odeur iodée importante (3,62) et des odeurs d'altération moins prononcées que les autres échantillons. La note attribuée à cet échantillon pour le critère brillance est aussi importante (2,93).

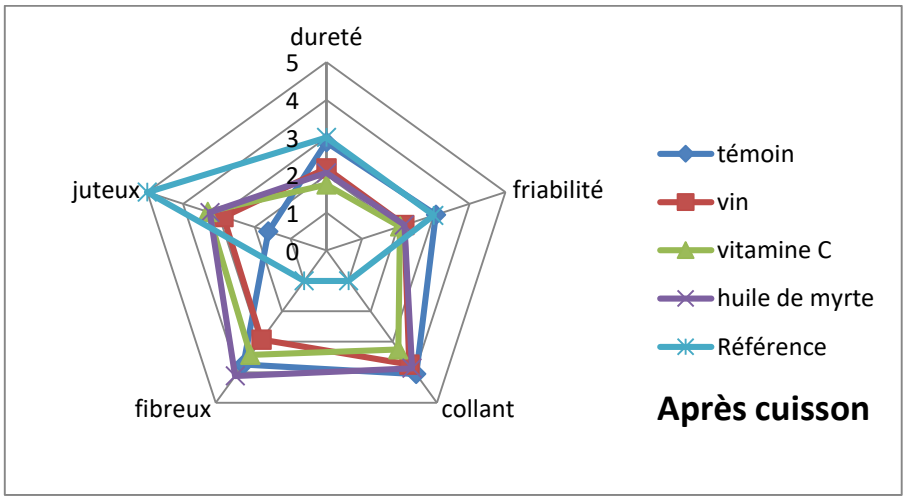


Figure 70. Profils sensoriels (texture) des différents échantillons du poisson après cuisson

Tableau 50: Profils relatifs aux critères d'évaluation après cuisson

Critères	Témoin	Vin	Vitamine C	Huile de myrte	Référence (Produit industriel)
Dureté	2,87	2,18	1,75	2,06	3
Friabilité	3,06	2,18	2,06	2,18	3
Collant	4,06	3,75	3,25	3,87	1
Fibreux	3,75	2,93	3,43	4,12	1
Juteux	1,62	2,87	3,31	3,25	5

Dans cette deuxième partie des analyses sensorielles effectuées, on constate que les échantillons marinés dans la solution aqueuse d'extrait phénolique du vin sont aussi les échantillons qui présentent le comportement le plus proche de l'échantillon frais, ces résultats attendus puisque les analyses avant cuisson traduisent un degré de fraicheur meilleur de cet échantillon comparé aux autres échantillons stockés.

Le panel d'analyse sensoriel a attribué des bonnes notes à l'échantillon enrobé pour la jutosité (3,25), la friabilité (2,18) et la dureté (2,06). Cependant les panélistes ont noté que cet échantillon était plus collant et fibreux que les autres échantillons.

IV. Modélisation

IV.1. Présentation du modèle de Sovova [79] (1994)

La théorie, à la base de ce modèle de transfert de masse comprend à la fois la phase solide et la phase fluide. Les hypothèses du modèle sont les suivantes :

a. L'écoulement est supposé de type piston, dans le lit

b. La dispersion axiale ainsi que l'accumulation dans le fluide sont négligeables

c. Le soluté est déposé à l'intérieur des cellules de la plante où il est protégé par la paroi cellulaire. Une partie de la paroi est détruite par le broyage (et autres traitements mécaniques) ainsi une quantité de soluté sera exposé directement au solvant et constituera le soluté facilement accessible (L).

L'autre partie du soluté se trouvant dans les cellules intactes constituera le soluté difficilement accessible (K).

La quantité d'huile totale est représentée selon l'équation suivante :

$$O=P+K \quad (eq81)$$

La concentration en soluté dans la phase solide est décrite sur la base de la teneur en matières solides du soluté libre total (N), à travers la relation :

$$X_0 = \frac{O}{N} \qquad (eq82)$$

$$X_p = \frac{K}{N} \qquad (eq83)$$

$$X_K = \frac{P}{N} \qquad (eq84)$$

Avec :

O : Masse totale du soluté

N : Masse de la partie insoluble

P : Masse du soluté facilement extractible

X : Rapport du soluté et la masse de la matière végétale

K : Masse du soluté difficilement extractible

Pour ce modèle, un bilan massique pour un élément différentiel du lit est écrit comme suit :

Phase solide :

$$-\rho_s.(1-\varepsilon).\frac{\partial X}{\partial t} = J(X,Y) \quad (eq85)$$

Phase fluide :

$$\rho_{CO_2}.\varepsilon\frac{\partial Y}{\partial t} + \rho_{CO_2}.U.\frac{\partial Y}{\partial h} = J(X,Y) \quad (eq86)$$

Avec :

X : Fraction de l'huile dans la phase solide.

Y : Fraction de l'huile dans la phase fluide.

U : Vitesse interstitielle

Dans le modèle, les termes relatifs à la dispersion du soluté dans la phase fluide sont négligés, ce qui élimine ainsi le premier terme de l'équilibre de masse dans la phase fluide. Par conséquent, l'équation 86 peut s'écrire comme suit :

$$\rho_{CO_2}.U.\frac{\partial Y}{\partial h} = J(X,Y) \quad (eq87)$$

Pour le bilan de masse dans la phase solide, la condition limite est la suivante :

$$X\ (h,\ t=0) = X_0 \quad (eq88)$$

Avec :

h : coordonnées axiales

Pour l'équilibre de masse dans la phase liquide, la condition limite est la suivante :

$$Y\ (h=0,\ t) = 0 \quad (eq89)$$

La solution analytique de ce modèle nécessite l'utilisation des variables adimensionnelles :

$$r = \frac{X}{X_K} \qquad \text{(eq90)}$$

$$y = 1 - \frac{Y}{Y^*} \qquad \text{(eq91)}$$

$$z = \frac{K_{Ya}}{U}.h \qquad \text{(eq92)}$$

$$\tau = \frac{\varepsilon.K_{Ya}.\rho_{CO_2}.Y^*.t}{(1-\varepsilon).\rho_s X_K} \qquad \text{(eq93)}$$

Les nouvelles conditions limites sont les suivantes :

$$\frac{\partial r}{\tau} = \frac{\partial y}{\partial z} = -J(r,y) \qquad \text{(eq94)}$$

$$r(z, \tau = 0) = r_0 \qquad \text{(eq95)}$$

$$Y(r = 0, \tau) = 1 \qquad \text{(eq96)}$$

Avec :

$$J^*(r,y) = \frac{J(X,Y)}{\varepsilon.K_{Ya}.\rho_{CO_2}.Y^*.t} \qquad \text{(eq97)}$$

Le terme J (X, Y) est défini comme suit :

Pour $X > X_K$ (eq98)

$$J(X,Y) = K_{Xa}.(Y^* - Y) \qquad \text{(eq99)}$$

Pour $X \leq X_K$ (eq100)

$$J(X,Y) = K_{Xa}.X.(1 - \frac{Y}{Y^*}) \qquad \text{(eq101)}$$

Après cela, il a été défini une fonction f (r) :

$$J^*(r,y) = f(r).y \qquad \text{(eq102)}$$

Telle que :

$$f(r>1) = 1 \qquad \text{(eq103)}$$

$$f(r \leq 1) \leq 1 \qquad \text{(eq104)}$$

Avec :

f(r) : Fonction exprime le retard de diffusion dans les particules

Pour déterminer le profil de concentration dans la période d'extraction à vitesse constante, Sovová [79] remplace le terme J * de l'équation 102 dans l'équation 95 grâce à son intégration en utilisant les conditions aux limites de chacun. Le terme J *doit être remplacé et considéré comme indépendant de la concentration du soluté dans la phase fluide. Cette intégration nous donne les équations105 et 106.

$$\frac{1}{f(r)}.\frac{\partial r}{\partial z} + r = r_0 \qquad \text{(eq105)}$$

$$\frac{\partial r(z=0,\tau)}{\partial \tau} = -f(r) \qquad \text{(eq106)}$$

Au cours de l'extraction du soluté facilement extractible la vitesse est constante ($X > X_K, r>1$) nous aurons les équation 107 et 108 :

$$\frac{\partial r}{\partial z} + r = r_0 \qquad \text{(eq107)}$$

$$\frac{\partial r(z=0,\tau)}{\partial \tau} = -1 \qquad \text{(eq108)}$$

Pendant la même période, mais à la condition ($X \leq X_k$, $r \leq 1$) nous associons une constante k de telle sorte que :

$f(r \leq 1) = kr$ (eq109)

La fonction de la constante k est introduite dans le coefficient de transfert de modèle masse dans la phase solide (K_{Xa}) comme le montre l'équation 110 :

$$k = \frac{K_{Xa}.\rho_s.X_K}{\varepsilon.K_{Ya}.\rho_{CO_2}.Y^*} \qquad \text{(eq110)}$$

Le profil de concentration du soluté dans la phase solide, exprimé par les équations 111, 112 et 113 :

pour $\tau < \tau_m$

$$r = r_0 - \tau.\exp(-z) \qquad \text{(eq111)}$$

pour $\tau_m \leq \tau < \tau_n$, $z > z_w$

$$r = r_0 - \tau_m.\exp\left[-(z - z_w)\right] \qquad \text{(eq112)}$$

pour $\tau_m \leq \tau \leq \tau_n$, $z > z_w$ et $\tau \geq \tau_n$

$$r = \frac{r_0}{1 + \left\{r_0 \exp\left[k(\tau - \tau_m\right] - 1\right\}\exp(-r_0 kz)} \qquad \text{(eq113)}$$

Avec :

$$\tau_m = r_0 - 1 \qquad \text{(eq114)}$$

$$\tau_n = \tau_m + \frac{1}{k}\ln\left[\frac{1+\tau_m \exp(r_0 kZ)}{1+\tau_m}\right] \qquad \text{(eq115)}$$

$$Z = \frac{k_{Ya}.h}{U} \qquad \text{(eq116)}$$

$$z_w = \frac{1}{kr_0}\ln\left\{\frac{r_0 \exp[k(\tau-\tau_m)]-1}{r_0-1}\right\} \qquad \text{(eq117)}$$

Sovová [79] utilise les trois équations pour décrire le profil de la concentration du soluté dans la phase solide pendant le processus d'extraction par fluide supercritique. La première étape, décrite par l'équation 114, est l'étape de l'extraction où le soluté est facilement accessible au solvant. Quand nous sommes encore dans l'étape d'extraction de la partie accessible nous avons ($\tau = \tau_m$) ; pour la deuxième période du procédé, nous avons z_w, une coordonnée qui divise le lit d'extraction en deux sections : la section où $z < z_w$, le soluté est extrait de l'intérieur des cellules et la section dans laquelle $z > z_w$, le soluté devient facilement extractible. La variable τ est égal à τ_n lorsque z atteint l'extrémité de la colonne d'extraction et le soluté devient accessible à n'importe quel point du lit. Intégrer l'équation 94 par rapport à y, nous donne le profil de la concentration du soluté dans la phase liquide :

pour $\tau < \tau_m$

$$y = \exp(-z) \qquad \text{(eq118)}$$

pour $\tau_m \le \tau < \tau_n, z > z_w$

$$y = \frac{\tau_m.\exp(z_w - z)}{r_0 - \exp[k(\tau-\tau_m]} \qquad \text{(eq119)}$$

pour pour $\tau_m \le \tau \le \tau_n$, $z > z_w$ et $\tau \ge \tau_n$

$$y = \frac{r_0 \exp[k(\tau-\tau_m]}{\exp(r_0 kz) + r_0 - \exp[k(\tau-\tau_m]-1} \qquad \text{(eq120)}$$

Pour l'analyse des données expérimentales, les équations du modèle doivent s'exprimer en fonction des quantités mesurables, tels que le temps ou la masse de l'extrait. Les équations qui définissent la courbe d'extraction par le modèle de Sovová [79] sont les suivantes :

pour $q < q_m$

$$e = \frac{m_e}{N} = q.Y^*.[1 - \exp((-Z)] \qquad \text{(eq121)}$$

$$e = \frac{m_e}{N} = Y^*[q - q_m \exp(z_w - Z)] \qquad \text{(eq122)}$$

pour $q \geq q_n$

$$e = \frac{m_e}{N} = X_0 - \frac{Y^*}{W} \ln\left\{\left[1 + \exp\left(\frac{WX_0}{Y^*}\right) - 1\right]\exp[W(q_m - q]\frac{X_k}{X_0}\right\} \qquad \text{(eq123)}$$

Avec :

m_e : Masse d'extrait relative à N

q : Quantité spécifique du solvant exprimé dans l'équation 124 :

$$q = \frac{m_{CO_2}}{N} \qquad \text{(eq124)}$$

q_m : Quantité du solvant spécifique dans les particules, exprimé dans l'équation 125 :

$$q_m = \frac{X_0 - X_K}{Y^* Z} \qquad \text{(eq125)}$$

m_{CO_2} : Masse du solvant

z : nombre adimensionnel

Z : paramètre de la première phase d'extraction, ce coefficient est directement proportionnel au coefficient de transfert de matière suivant l'équation 126 :

$$Z = \frac{k_f a_0 \rho_{CO_2}}{Q_{CO_2}(1 - \epsilon)\rho_s} = \frac{F}{Q_{CO_2}} \qquad \text{(eq126)}$$

W : Paramètre de la troisième phase d'extraction, ce coefficient est directement proportionnel au coefficient de transfert de matière suivant l'équation 127 :

$$W = \frac{k_s a_0}{Q_{CO_2}(1 - \epsilon)} = \frac{S}{Q_{CO_2}} \qquad \text{(eq127)}$$

Avec

u : La vitesse superficielle du solvant

t : Temps

r : Concentration dans la phase liquide

f(r) : Fonction exprimant le retard de diffusion dans les particules

h : Coordonnées axiales

H : Hauteur du lit

J* : Taux de transfert de masse

K : Masse initiale du soluté inaccessible

k : Paramètre du modèle de Sovova

k_{Ya} : Coefficient de transfert de masse dans la phase fluide

k_{Xa} : Coefficient de transfert de masse dans la phase solide

ε : Porosité du lit ou fraction du vide

ρf : Densité du fluide

ρs : Densité de solide

τ : Temps adimensionnel

Povh [181], dans son étude sur l'extraction de l'huile essentielle de camomille, a proposé les équations 121,122 et 123 afin de faciliter le calcul des coefficients de transfert masse dans la phase fluide (K_{YA}) et solide (K_{XA}) pour la période de CER (constant extraction rate period). Les équations sont représentées ci-dessous :

Pour $t < t_{CER}$

$$m = Y^*\left[1-\exp(-Z)\right]Q_{CO_2}.t \qquad \text{(eq128)}$$

pour $t_{CER} \le t \le t_{FER}$

$$m = Y^*\left[t - t_{CER}\exp(z_w - Z)\right]Q_{CO_2}.t \qquad \text{(eq129)}$$

pour $t \le t_{FER}$

$$m = N\left\langle X_0 - \frac{Y^*}{W}\ln\left\{1+\left[\exp\left(\frac{W.X_0}{Y^*}-1\right]\exp\left[\left(\frac{W.Q_{CO_2}}{N}\right)(t_{CER}-t)\right]\left(\frac{X_K}{X_0}\right)\right\}\right\rangle \qquad \text{(eq130)}$$

Avec :

$$Z = \frac{N.K_{Ya}.\rho_{CO_2}}{Q_{CO2}.(1-\varepsilon).\rho_s} \qquad \text{(eq131)}$$

$$t_{CER} = \frac{N.X_p}{Y^*.Z.Q_{CO2}}$$

$$X_p = X_0 - X_K$$

$$\frac{z_w}{Z} = \ln\left\{\frac{X_0.\exp\left[\left(\frac{W.Q_{CO2}}{N}\right)(t - t_{CER}\right] - X_K}{X_0 - X_K}\right\} \qquad \text{(eq132)}$$

$$W = \frac{N.k_{Xa}}{Q_{CO2}.(1-\varepsilon)} \qquad \text{(eq1323}$$

$$t_{FER} = t_{CER}\,\frac{N}{W.Q_{CO2}}\ln\left[\frac{X_K + (X_0 - X_K).\exp\left(\frac{WX_0}{Y^*}\right)}{X_0}\right] \qquad \text{(eq134)}$$

Avec :

m: Masse d'extrait

Y* : Solubilité dans l'extrait de solvant, qui peut être calculé selon Povh [181] par :

$$Y^* = \frac{M^*}{Q_{CO_2}} \qquad \text{(eq135)}$$

M* : Taux de transfert de masse pour la période à taux d'extraction constante 1g/min

IV.2. Estimation des paramètres

Les paramètres du modèle sont les suivants :

- t_{CER} : temps de la transition entre la première et la deuxième phase d'extraction et qui est calculé par l'équation suivante :

$$t_{CER} = \frac{N.X_p}{Y^*.Z.Q_{CO2}} \qquad \text{(eq136)}$$

Les paramètres adimensionnels, Z et W, sont directement proportionnels aux coefficients de transfert externe dans la phase fluide, et dans la phase solide respectivement, et sont donnés par les relations suivantes:

$$Z = \frac{k_f a_0\,\rho_{CO_2}}{\dot{q}(1-\varepsilon)\rho_s} \text{(eq1}$$

37)

$$W = \frac{k_s a_0}{\dot{q}(1-\varepsilon)} \text{ (eq138)}$$

Avec :

- $\dot{q} = \frac{q}{t}$

- $p_{\%}$: pourcentage d'extrait non extractible.

Nous avons constaté que l'application de ce modèle nécessite la connaissance de la concentration initiale du soluté dans le solide (x_0), qui est facilement déterminée dans le cas de l'extraction des huiles essentielles à partir des grains, mais difficile dans le cas de l'extraction à partir des feuilles. Ainsi pour x_0 la définition la plus appropriée dans notre cas est la quantité maximale extractible initialement présente. Ce paramètre change avec les conditions opératoires et avec le type de procédé.

–La masse de solide inerte (N) a été considérée comme étant la charge d'alimentation moins la masse totale de l'extrait ;

$$m_{extTotal} = m_{extFinal} + m_{extFinal} \cdot p_{\%} \text{ (eq139)}$$

$$N = F - m_{extTotal} \text{ (eq140)}$$

$$X_0 = \frac{m_{extTotal}}{N} = \frac{O}{N} \text{ (eq141)}$$

- En absence des données expérimentales sur la solubilité du système étudié pour les différentes conditions opératoires (T et P), la méthode utilisée pour l'estimation de la solubilité est le calcul par la pente de la courbe reliant la masse extraite à la masse du solvant $m_{ext} = f(m_{CO_2})$.

Cette méthode pour l'estimation d'une pseudo-solubilité est basée sur les hypothèses suivantes: la vitesse d'extraction au début est quasi constante et la vitesse maximale d'extraction est atteinte au début du procédé.

Dans ces conditions, le flux de transfert du soluté à travers le film s'écrit :

$$J = k_f a_0 \rho_f (y^* - y)$$

Avec l'hypothèse que $y^* >> y$, l'expression précédente devient:

$$y^* = \frac{J}{k_f a_0 \rho_f}$$

Sachant que le flux (J) est constant, ainsi que les autres termes k_f, a_0 et ρ_f et que y^* est égale au rapport m_{ext}/m_{charge}, on montre que ce rapport représente la solubilité et qu'il est constant pendant la première période d'extraction. Il suffit donc de tracer m_{ext} en fonction de m_{CO_2} pour déterminer la pseudo-solubilité ($y^* \approx y_{CER}$).

Les paramètres du modèle à savoir, Z, W, t_{CER} et $p_{\%}$ sont ajustés en minimisant l'erreur entre le rendement expérimental et le rendement calculé, cette erreur est quantifiée par la relation:

$$ERR = \frac{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \hat{y}_i)^2}{\sum_{i=1}^{n}(y_i - \bar{y})^2} = \frac{SSE}{SST}$$

Avec :

y_i : Solubilité expérimentale

$\hat{y}_i$: Solubilité simulée par le modèle

$\bar{y}$: Solubilité moyenne

IV.3. Résultats du modèle

Afin d'étudier l'effet de la pression, de la température, du débit du CO_2 et de la granulométrie sur la cinétique d'extraction des feuilles de *Pistacia*, les différentes conditions opératoires choisies sont représentées dans le tableau 51.

Tableau 51: Conditions opératoires des expériences de la modélisation selon Sovova [79] : temps statique = 30 minutes, masse volumique de la plante=395 kg.m^{-3}

Expériences	P (Bar)	T (°C)	Débit (kg.h^{-1})	Masse volumique de CO_2 (kg.m^{-3}) *	Taille des particules (µm)
1	150	40	0,6	780,23	220
2	220	40	0,6	857,20	650
3	220	40	1,2	857,20	650
4	220	50	1,2	806,61	220
5	220	60	1,2	752,38	220
6	150	40	1,2	780,23	220
7	220	40	1,2	857,20	220
8	80	40	1,2	277,90	220
9	80	40	0,6	277,90	650
10	150	40	1,2	780,23	650
11	100	40	0,6	428,76	650
12	150	40	1,2	780,23	650
13	100	40	1,2	428,76	650
14	80	40	0,6	277,90	220
15	220	40	0,9	857,20	220
16	220	40	1,2	857,20	650
17	100	40	1,2	428,76	220
18	220	70	1,2	777.58	220
19	220	40	0,3	857,20	220
20	100	40	0,6	428,76	650

* [NIST Chemistry WebBook]

D'après les résultats présentés dans le tableau 52, nous constatons que le coefficient de transfert dans la phase fluide $k_f.a$ diminué avec l'augmentation de la pression, ce résultat est dû à la diminution de la vitesse du solvant. Par contre dans la phase solide $k_s.a$ augmenté et la résistance dans le solide augmente.

La différence entre les valeurs de $k_f.a$ et $k_s.a$ est dû au fait que $k_s.a$ est relié à la diffusion du soluté à l'intérieur de la particule, et dépend des propriétés de la matière végétale, alors que $k_f.a$ dépend des conditions opératoires (P et T) et de l'hydrodynamique du lit.

Tableau 52: Résultats de la modélisation

Données				Estimation				Résultats			Validation	
N	10^4*X_0	y^*	10^4*x_k	Z (adimensionnel)	W (adimensionnel)	p [%]	t_{CER} (s)	t_{FER} (s)	$k_{fa}*10^4$ (s^{-1})	$k_{sa}*10^4$ (s^{-1})	R^2 %	$ERR*10^2$
0,029000	10,00	0,0075	04	0,029	0,053	3,00	482,01	496,10	1,130	1,45	98,84	1,160
0,029968	10,13	0,0130	04	0,0298	0,138	3,00	315,34	324,75	1,150	3,74	99,43	5,700
0,029943	18,99	0,0187	13	0,0304	0,021	8,61	197,94	203,97	1,180	5,89	98,70	1,290
0,029932	22,64	0,0175	14	0,0783	0,037	3,00	110,98	119,67	0,970	1,00	91,16	8,840
0,02994	20,09	0,0128	25	0,0219	4,82	3,00	1449,61	1473,2	1,700	262	87,80	1,220
0,029961	12,93	0,0078	07	0,0304	0,019	3,00	211,58	218,02	0,753	0,986	96,47	3,520
0,029826	58,40	0,0259	31	0,0275	0,017	3,00	344,24	353,72	2,140	0,912	99,62	0,374
0,029972	9,46	0,0038	06	0,0306	0,019	3,10	232,86	240,00	0,214	0,992	99,28	0,719
0,029971	9,73	0,0029	05	0,0374	0,012	6,42	431,23	447,37	0,926	0,666	99,61	0,383
0,02997	10,02	0,0078	06	0,0304	0,013	11,20	198,81	204,86	0,565	5,32	98,78	1,220
0,02995	16,78	0,0044	13	0,0297	0,022	3,00	265,96	273,89	0,782	1,21	97,98	0,541
0,02994	15,20	0,0065	12	0,0304	0,0122	7,43	224,80	231,64	0,828	0,657	98,47	1,530
0,029946	17,91	0,0050	25	0,0701	0,0110	9,08	111,85	119,71	1,740	0,590	98,38	1,610
0,029913	29,21	0,0033	14	0,0267	0,0092	9,78	549,97	564,67	2,040	0,494	99,60	0,408
0,029939	20,27	0,0180	38	0,0562	0,0114	7,88	113,61	120,00	1,400	0,615	97,10	2,830
0,029848	50,78	0,0089	12	0,0215	0,0172	7,80	437,24	446,66	0,799	0,693	99,44	0,552
0,029942	19,30	0,0068	13	0,0262	0,0218	4,86	298,95	306,79	9,720	0,879	99,54	0,453
0,029947	17,79	0,0103	19	0,0282	0,0059	30,00	473,78	487,16	1,050	0,237	98,74	1,260
0,02991	30,12	0,0086	04	0,0258	0,0232	3,00	509,29	522,46	0,959	0,936	99,51	0,483
0,029958	13,86	0,0046	07	0,0271	0,0212	3,00	978,36	1004,9	1,010	0,854	99,60	0,394

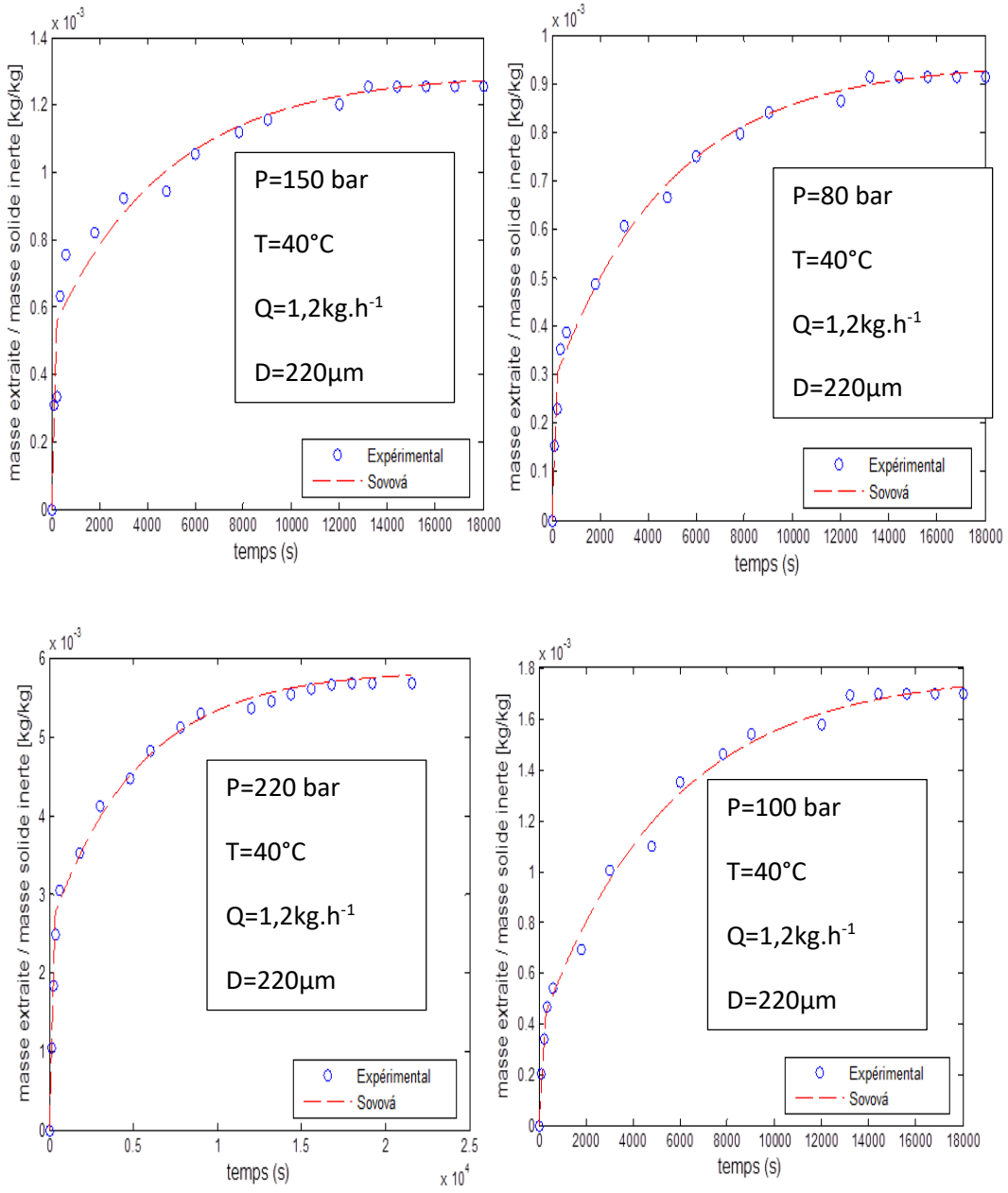


Figure 71. Evolution du rendement expérimental et théorique à différentes pressions

La température a un effet différent sur ces coefficients. Ainsi quand la température augmente, $k_f.a$ augmente, ceci est dû à la diminution de la masse volumique du solvant. Pour une pression de 220 bars le coefficient de transfert dans la phase solide $k_f.a$ augmente avec l'augmentation de la température de 40°C à 60°C par contre au-delà de cette valeur de la température nous avons constaté un effet inverse.

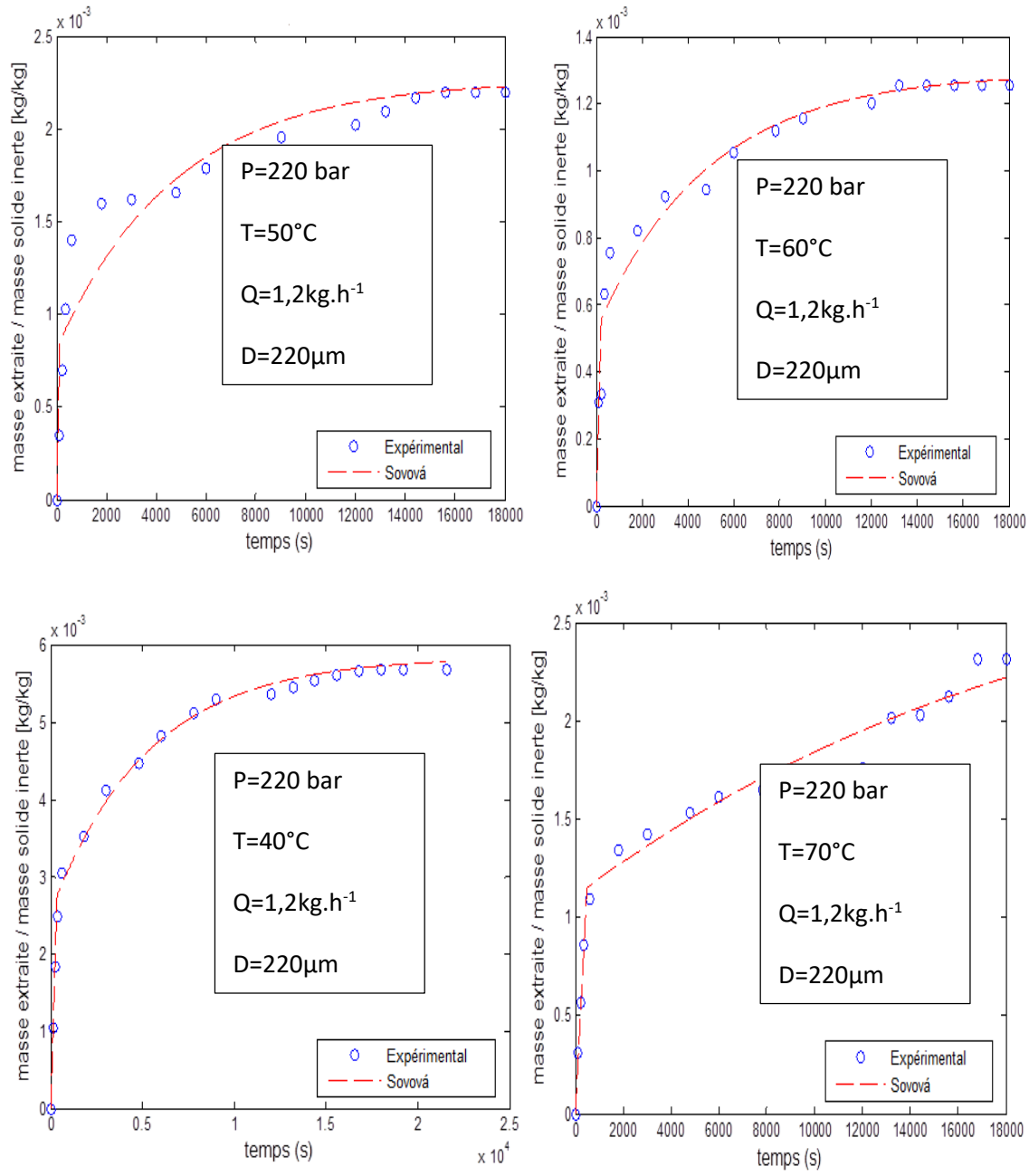


Figure 72. Evolution du rendement expérimental et théorique à différentes températures

D'après les résultats nous remarquons que l'effet du débit est très important sur la valeur de t_{CER} par contre il n'a pas influence sur $k_f.a$ et $k_s.a$. Ceci est clair dans les expériences 2 et 3 le t_{CER} passe de 315,34 seconde pour un débit de 0,6 $kg.h^{-1}$ à 197,94 secondes pour un débit 1,2 $kg.h^{-1}$.

A un débit plus grand, l'influence est importante sur le temps transition entre la première et la 2ème période, par contre il n'influence pas les autres paramètres.

Nous avons remarqué un temps de transition très élevé (1449 s) par rapport aux autres conditions opératoires et précisément pour une pression élevée (220 bars) et une température aux alentours de 60°C par contre, à 100 Bars et un débit de 1,2 $kg.h^{-1}$ avec des particules de

grandes tailles (650 µm), on a eu seulement 111 s comme temps de transition. En examinant les expériences 3 et 6, nous pouvons conclure qu'une diminution de la taille des particules de 650 µm à 220µm pour une pression, température et débit de CO_2 constantes, entraine une augmentation du coefficient de transfert de masse côté solide et une diminution du coefficient de transfert de masse côté fluide. Mais la granulométrie n'a pas d'effet sur les autres paramètres du modèle.

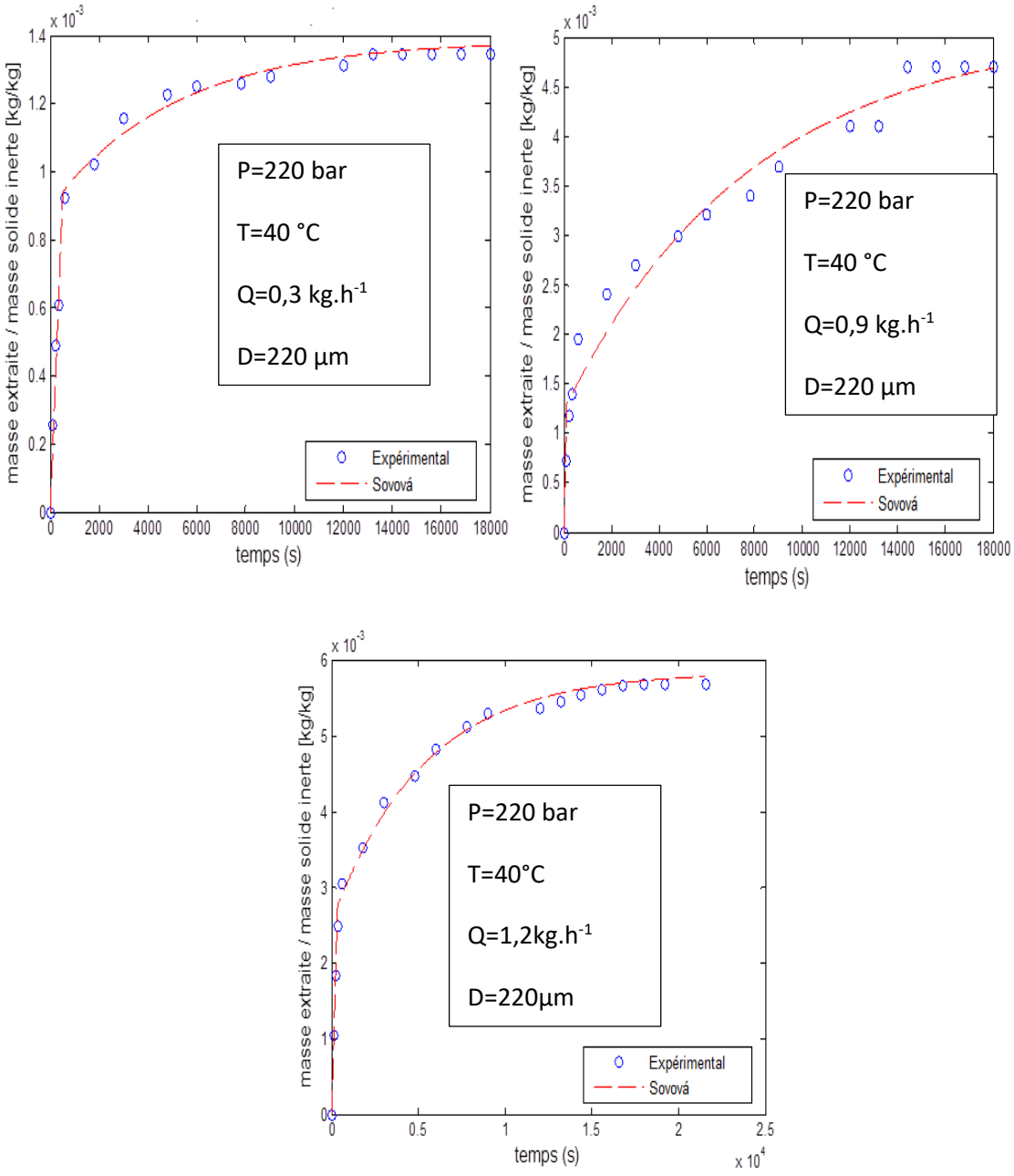


Figure 73. Evolution du rendement expérimental et théorique à différents débits de CO_2

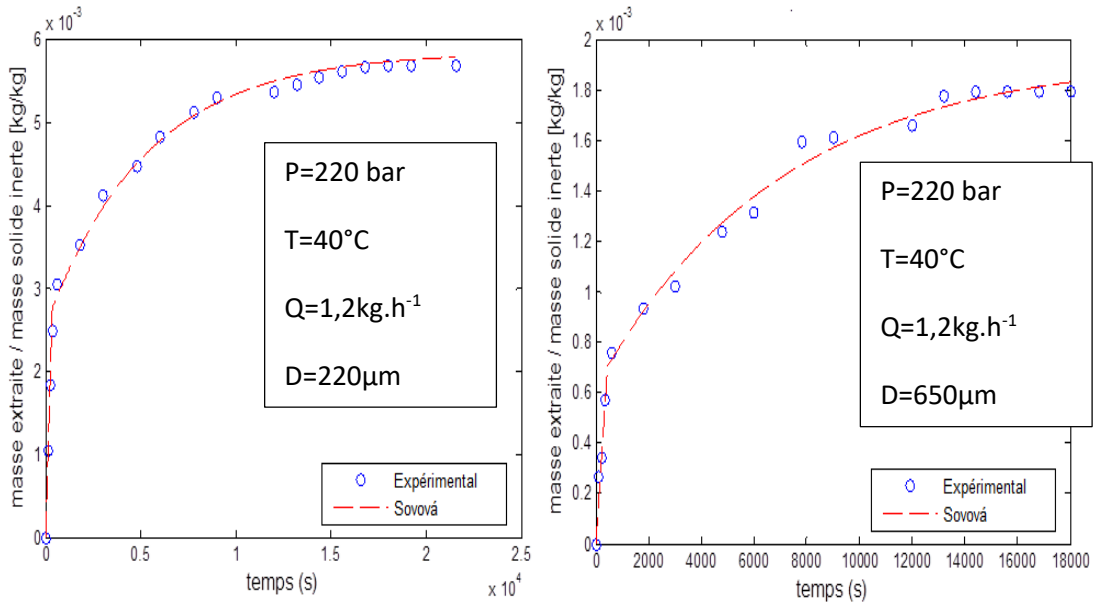


Figure 74. Evolution du rendement expérimental et théorique à différentes tailles de particules

Les courbes représentés ci-dessous montrent bien la fiabilité de nos résultats et la coïncidence des points expérimentaux et des points trouvés à partir de la simulation du modèle de Sovova [79].

En examinant le coefficient de la corrélation R^2 du modèle, nous pouvons affirmer que ce modèle a bien exprimé nos résultats expérimentaux et que l'erreur de manque d'ajustement est très négligeable.

Le modèle proposé par Sovova [79] et dont l'hypothèse de base est la non uniformité de la distribution du soluté dans le solide, constitue une approche plus réaliste du mécanisme d'extraction. Cette hypothèse traduit le fait qu'au début de l'extraction, le soluté est distribué sur deux types de sites : les cellules brisées et les cellules intactes.

L'utilisation de ce modèle nécessite également la connaissance de la solubilité du système étudié dans toutes les conditions opératoires. D'une manière générale les données de solubilité ne sont pas toujours disponibles, auxquels cas nous avons eu recours à l'utilisation des données expérimentales sur la cinétique d'extraction pour l'estimer.

L'ajustement du coefficient de transfert dans la phase solide ($k_f.a$) a montré que la surface externe effective, c'est à dire celle qui est concernée par le transfert, ne représente qu'une petite partie de la surface spécifique externe de la particule.

CONCLUSION GENERALE

Le but du présent travail est d'étudier l'extraction par fluide supercritique, la valorisation des extraits à partir des fleurs de Myrte et des feuilles de *Pistacia* par CO_2 supercritique et la recherche d'un produit avec un rapport qualité prix meilleur. L'étude a été menée selon les étapes suivantes :

-Optimisation des conditions d'extraction des fleurs de Myrte par CO_2 supercritique par un plan d'expérience de Doehlert modifié par l'algorithme de Detmax afin d'améliorer le plan de Dohelert existant qui n'a pas été fiable dans notre cas.

-Analyse et comparaison de la composition d'extrait de myrte et son activité antioxydante avec les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation.

-Optimisation avec un plan composite central du rendement et de l'activité antioxydant des feuilles de *Pistacia* en fonction des conditions opératoires ainsi que la détermination des conditions optimales globales des deux réponses étudiées.

- Estimation des coûts de fabrication d'extrait du *Pistacia* pour les différentes conditions opératoires optimales et pour différentes tailles d'installations supercritiques.

- Analyse de la composition chimique d'extrait de *Pistacia* et l'estimation des composés responsables de l'activité antioxydante dans les extraits de Pistacia à différentes conditions opératoires.

-Valorisation des extraits par CO_2 supercritique, les huiles essentielles et de l'eau florale de myrte en les ajoutant comme un alternatif pour remplacer des antioxydants commerciaux par des antioxydants naturels.

- Etude de l'effet des conditions opératoires sur le phénomène de transfert de matière en utilisant le modèle de Sovova.

Cette étude expérimentale de l'extraction et de valorisation nous a permis de mettre en évidence les résultats suivants :

- la modification du plan de Doehlert via l'algorithme de DETMAX, nous a fourni plus d'informations et nous a donné des bons résultats de modélisation, cette amélioration prédictive de ce plan été obtenue suite à une augmentation nette du déterminant de la matrice de Fisher lors du choix des points d'identification paramétriques.

-l'optimisation de l'extraction des fleurs de Myrte a permis d'obtenir un rendement de 1,37%, par rapport un rendement de 0,3% par hydrodistillation. Ces résultats ont montré que la pression était le facteur le plus influençant sur le rendement d'extraction et il est préférable de travailler à haute pression afin de récupérer le maximum d'extrait. La température a un effet négatif sur le rendement et la température optimale pour l'extraction des fleurs de myrte est de l'ordre de 40°C. L'étude de l'effet de la masse végétale initialement introduite n'a montré aucun effet significatif sur le rendement. L'étude de l'effet du temps de contact sur le rendement, nous a donné un rendement maximal pour un temps de contact de 40 minutes.

-l'étude de la composition d'extrait de Myrte a donné un chémotype différent de celui des huiles essentielles, α-pinène/1,8-cinéole comme chémotype pour les huiles essentielles ; 1.8-cinéole /eugénol pour l'extrait issue par CO_2 supercritique.

- l'extrait des fleurs de Myrte par CO_2 supercritique a présenté une activité antioxydante meilleure (IC_{50}) que celle des huiles essentielles et qui est de l'ordre de 30 µg/ml pour l'extrait de CO_2 supercritique et de 0,8 mg/ml pour les huiles essentielles.

- Pour avoir un bon rendement, il faut travailler à haute pression (200 bar) et pour avoir une bonne activité antioxydante on doit travailler à basse pression (80 bar).

- l'optimisation du rendement et de l'activité antioxydante n'a pas abouti à un maximum commun suite aux conditions optimales des deux réponses qui n'ont pas de points communs.

- la recherche des conditions optimales d'extraction pour avoir un maximum d'extrait avec une activité antioxydante acceptable, nous a donné les conditions optimales suivantes : une pression de 84 bar, une température de 40°C, un débit de 1,2 $kg.h^{-1}$, un temps de contact de 36 minutes et les particules doivent avoir une taille de l'ordre de 461 µm.

- Pour ne pas négliger le côté économique, l'étude du coût du produit a été réalisé et nous avons montré qu'avec un bon investissement au début pour avoir une installation supercritique de 1000 L nous obtiendrons un extrait de bonne qualité et de moindre coût qui peut être 6 fois moins cher que le prix d'une huile essentielle existant sur le marché.

- l'ajout d'extrait de CO_2 supercritique de *Pistacia* à l'huile de beurre présente la meilleure capacité de stabiliser la matière grasse face à l'oxydation.

-L'ajout de l'eau florale des fleurs de Myrte au yaourt a favorisé le catabolisme des sucres et l'anabolisme des acides organiques.

Tous ces résultats donnent plus d'intérêt à l'ajout des extraits naturels au lait ou à des produits laitiers comme les yaourts pour assurer des effets bénéfiques sur la santé et une protection contre les micro-organismes d'altération.

- L'ajout de l'huile de myrte pour l'enrobage des filets de sardine a montré :

* la teneur finale en ABVT après 7 jours de stockage réfrigéré de l'échantillon contenant la vitamine C est de 21mgN /100g et celle de l'échantillon contenant l'huile essentielle de myrte est de 23 mgN /100g contre 25mgN /100g pour l'échantillon témoin.

* la vitamine C et le film contenant l'huile essentielle de Myrte ont présenté la meilleure aptitude à retarder la formation des peroxydes.

* Les variations de la capacité de rétention d'eau des échantillons additionnés des conservateurs naturels (vitamine C, extrait phénolique du vin), sont aussi meilleures que l'échantillon témoins avec une valeur de 52% à la fin de la période de stockage pour les deux échantillons.

Finalement, les résultats expérimentaux de l'extraction par CO_2 supercritique d'extrait de *Pistacia*, ont été modélisés par le biais du modèle de Sovova, modèle retenu vu sa fiabilité et les résultats numériques obtenus dans plusieurs travaux antérieurs rapportés dans la littérature.

Perspectives

Enfin, dans un contexte promouvant la chimie verte et le développement durable, les nouvelles technologies, en utilisant des solvants 'verts' tels que le CO_2-SC, répondent aux exigences des industries pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire, et respectent les normes pour la protection de l'environnement. Par conséquent, ces nouvelles technologies apparaissent bien comme la meilleure solution alternative et la plus efficace face à ces défis de l'industrie moderne. A l'issue de ces travaux menés tout au long de cette thèse, un certain nombre de pistes de recherche sont à notre portée et méritent d'être expérimentées. En voici quelques-unes :

- L'extrapolation de ces résultats et le développement de ces procédés à l'échelle industrielle nous semblent très importants dans des domaines tels que les industries pharmaceutiques, cosmétique et agroalimentaire.

- La modélisation du processus d'extraction au CO_2-SC à haute pression pour en améliorer l'extraction des antioxydants naturels.

- La valorisation des extraits de ces nouvelles technologies par des tests sur les activités biologiques telles que l'activité anticancéreuse et antipaludique.

- Le fractionnement de ces extraits et l'identification des molécules responsables de la meilleure activité.

REFERENCES

Références

[1] EL HAMROUNI, A. Conservation des zones humides littorales et des écosystèmes côtiers du Cap-Bon. Rapport de diagnostic des sites, partie relative à la flore et à la végétation. *Med Wet et Coast, République Tunisienne, 38p*, 2001.

[2] CHEMLI, R. Plantes médicinales et aromatiques de la flore de Tunisie. *Cahiers Options Méditerranéennes*, 1997, vol. 23, p. 119-125.

[3] AIDI W., MHAMDI, B. and MARZOUK, B. (2007). Essential oil composition of two Myrtus communis L. varieties grown in North Tunisia. Ital. J. Biochem. 56 : 180-186.

[4] HAJAMMAR, A, ZAGROUBA, F, et ROMDHANE, M. Optimization of operating conditions of Tunisian myrtle (Myrtus communis L.) essential oil extraction by a hydrodistillation process using a 24 complete factorial design. *Flavour and fragrance journal*, 2010, vol. 25, no 6, p. 503-507.

[5] NABLI, M. A. Essai de synthèse sur la végétation et la phyto-écologie tunisiennes, tome I. *MAB (Faculté des sciences de Tunis) Tunisie*, 1989, p. 186-188.

[6] EMBERGER, L. *Une classification* biogéographique *des climats*. 1955.

[7] CAMARADA I, VALSECCHI F. PICCOLI. Arbusti, Liane e Suffrutici Spontanei della Sardegna. Carlo Delfino Editore : Sassari, 1990 ; 215.

[8] BOWN, D., *et al. The Royal Horticultural Society encyclopedia of herbs & their uses*. Dorling Kindersley Limited, 1995.

[9] BAYER, E., BUTTLER, K. P., FINKENZELLER, X., *et al.* Guide de la flore méditerranéenne: Caractéristiques, habitats, distribution et particularités de 536 espèces. Guides des Naturalistes

[10] POTTIER-ALAPETITE, G. Flore de la Tunisie (Angiospermes-Dicotylé dones), publications scientifiques tunisiennes. *Ministere de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique, ministere de l'Agriculture, Tunis*, 1979, vol. 1981, no 2.

[11] AIDI W., MHAMDI B., SRITI, J., et al. Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (Myrtus communis var. italica L.) leaf, stem and flower. Food and chemical toxicology, 2010, vol. 48, no 5, p. 1362-1370.

[12] FlAMINI, G., CIONI, P.L., MORELLI, I., MACCIONI, S. and Baldini, R. (2004). Phytochemical thypologies in some populations of Myrtus communis L. on Caprione Promontory (East Ligura, Italy). Food Chem. 85: 599-604

[13] BOULLARD, B. *Plantes médicinales du monde : croyances et réalités*. De Boeck Secundair, 2001.

[14] SEPICI-DINCEL, A., AÇIKGÖZ, Ş., ÇEVIK, C., *et al.* Effects of in vivo antioxidant enzyme activities of myrtle oil in normoglycaemic and alloxan diabetic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*, 2007, vol. 110, no 3, p. 498-503.

[15] WILLIAMS, C-A. et GRAYER, R-J. Anthocyanins and other flavonoids. *Natural product reports*, 2004, vol. 21, no 4, p. 539-573.

[16] RAMIREZ-TORTOSA, C., ANDERSEN, y-M., GARDNER, P-T., et al. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E-depleted rats. Free Radical Biology and Medicine, 2001, vol. 31, no 9, p. 1033-1037.

[17] FEDERSPIL, P., WULKOW, R., et ZIMMERMANN, T. [Effects of standardized Myrtol in therapy of acute sinusitis--results of a double-blind, randomized multicenter study compared with placebo]. Laryngo-rhino-otologie, 1997, vol. 76, no 1, p. 23-27.

[18] GUENTHER, E. The Essential Oils., Van Nostrana Co. Inc., New York, 1948.

[19] GUIGNARD, Jean-Louis et POTIER, Pierre. *Biochimie végétale*. Dunod, 2000.

[20] CIRCELLA, G., FRANZ, C., NOVAK, J. and RESCH, H. (1995). Influence of day length and leaf insertion on the composition of marjoram essential oil. Flav. Fragr. J. 10: 371-374

[21] FLAMINI, G., CIONI, P.L, MORELLI, I., et al. Phytochemical typologies in some populations of Myrtus communis L. on Caprione Promontory (East Liguria, Italy). Food chemistry, 2004, vol. 85, no 4, p. 599-604.

[22] CHALCHAT, J-C., GARRY, R-P., et MICHET, A. Essential oils of myrtle (Myrtus communis L.) of the Mediterranean littoral. Journal of essential oil Research, 1998, vol. 10, no 6, p. 613-617.

[23] BRADESI, P., TOMI, F., CASANOVA, J., et al. Chemical composition of myrtle leaf essential oil from Corsica (France). Journal of essential oil Research, 1997, vol. 9, no 3, p. 283-288.

[24] YADEGARINIA, D., GACHKAR, L., REZAEI, M.B., et al. Biochemical activities of Iranian Mentha piperita L. and Myrtus communis L. essential oils. Phytochemistry, 2006, vol. 67, no 12, p. 1249-1255.

[25] BOELENS, M-H. et JIMENEZ, R. The Chemical Composition of Spanish Myrtle Leaf Oils. Part I. Journal of essential oil Research, 1991, vol. 3, no 3, p. 173-177.

[26] JERKOVIC, I., RADONIC, A., et BORCIC, I. Comparative study of leaf, fruit and flower essential oils of Croatian Myrtus communis (L.) during a one-year vegetative cycle. Journal of Essential Oil Research, 2002, vol. 14, no 4, p. 266-270.

[27] FARAH, A., AFIFI, A., FECHTAL, M., et al. Fractional distillation effect on the chemical composition of Moroccan myrtle (Myrtus communis L.) essential oils. flavour and fragrance journal, 2006, vol. 21, no 2, p. 351-354.

[28] AKGÜL, A. et KIVANC, M. Inhibitory effects of selected Turkish spices and oregano components on some foodborne fungi. International Journal of Food Microbiology, 1988, vol. 6, no 3, p. 263-268.

[29] BOELENS, M-H. et JIMENEZ, R. The chemical composition of Spanish myrtle oils. Part II. Journal of Essential Oil Research, 1992, vol. 4, no 4, p. 349-353.

[30] GAUTHIER, R., GOURAI, M, et BELLAKHDAR, J. A propos de l'huile essentielle de Myrtus communis L. var. italica récolté au Maroc. I: Rendements et compositions durant un cycle végétatif annuel. II : Rendement et composition selon le mode d'extraction ; comparaison avec diverses sources. Al Biruniya, 1988, vol. 4, no 2, p. 97-132.

[31] AIDI, W., MHAMDI, B., SRITI, J., et al. Changes in essential oil composition of Tunisian Myrtus communis var. italica L. during its vegetative cycle. Journal of Essential Oil Research, 2010, vol. 22, no 1, p. 13-18.

[32] BELLAKHDAR, J. Pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis press ; Editions Le Fennec, 1997.

[33] AIDI, W., MHAMDI, B., and MARSOUK, B. (2009). Variations in essential oil and fatty acid composition during Myrtus communis var. italica fruit maturation. Food Chem. 112 : 621- 626.

[34] ZRIRA, S., ELAMRANI, A., et BENJILALI, B. Chemical composition of the essential oil of Pistacia lentiscus L. from Morocco—a seasonal variation. Flavour and fragrance journal, 2003, vol. 18, no 6, p. 475-480.

[35] DOUISSA, F., Ben, HAYDER, N., CHEKIR-GHEDIRA, L., et al. New study of the essential oil from leaves of Pistacia lentiscus L. (Anacardiaceae) from Tunisia. Flavour and fragrance journal, 2005, vol. 20, no 4, p. 410-414.

[36] BACHROUCH, O., MSAADA.K., AIDI, W., TALOU, T., KSOURI, R., SALEM, N., ABDERRABA, M., MARSOUK, B. Variations in composition and antioxidant activity of Tunisian Pistacia lentiscus L. leaf essential oil. Plant Biosystems Volume 149, Issue 1, 2015 pages 38-47

[37] CONGIU, R, FALCONIERI, D, MARONGIU, B., et al. Extraction and isolation of Pistacia lentiscus L. essential oil by supercritical CO2. Flavour and fragrance journal, 2002, vol. 17, no 4, p. 239-244.

[38] BAHI BOUNNATIROU S., (2008). Étude éco-physiologique, photochimique et histocytologique du thym (Thymus capitatus) en Tunisie. Mémoire de Thèse. Science Biologique, Faculté des Sciences de Tunisie, pages 175

[39] LEE, M-S., CHOI, J., POSADZKI, P.et al. Aromatherapy for health care: an overview of systematic reviews. Maturitas, 2012, vol. 71, no 3, p. 257-260.

[40] RIBEIRO, M. A., BERNARDO-GIL, M. G., et ESQUIVEL, M. M. Melissa officinalis, L.: study of antioxidant activity in supercritical residues. The Journal of Supercritical Fluids, 2001, vol. 21, no 1, p. 51-60.

[41] YEPEZ, B., ESPINOSA, M., LÓPEZ, S., *et al.* Producing antioxidant fractions from herbaceous matrices by supercritical fluid extraction. *Fluid Phase Equilibria*, 2002, vol. 194, p. 879-884.

[42] Helmelt S. Oxitadive stress from basic recherche to clinical application. Am. J. Med.91 (1991) 217-224.

[43] YANISHLIEVA, N., et MARINOVA, E. Antioxidant activity of selected species of the family Lamiaceae grown in Bulgaria. *Food/Nahrung*, 1995, vol. 39, no 5-6, p. 458-464.

[44] LIZERTTE, G., GERGORIO, I-G.., ALICIA T., ALEJANDRO A., GIULIANA, A., RANDELIS, M., ROLANDO, T., JORJE P., OLGA S.L. Contribution to characterization of oxydative stress in HIV/AIDS patients Pharmaco. Res. 47 (2003) 217-224.

[45] MARC, F., DAVIN, A., DEGLENE-BENBRAHIM, L., *et al.* Méthodes d'évaluation du potentiel antioxydant dans les aliments. *M/S: médecine sciences*, 2004, vol. 20, no 4, p. 458-463.

[46] SVOBODA, K. P., et HAMPSON, J-B. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants : antibacterial, antioxidant, antiinflammatory and other related pharmacological activities. *Plant Biology Department, SAC Auchincruive, Ayr, Scotland, UK., KA6 5HW*, 1999, p. 1-17.

[47] TRIANTAFILLOU, D., ZOGRAFOS, V., et KATSIKAS, H. Fatty acid content of margarines in the Greek market (including trans-fatty acids): a contribution to improving consumers' information. *International journal of food sciences and nutrition*, 2003, vol. 54, no 2, p. 135-141.

[48] Frankel E.N. Lipid oxidation. *Prog Lipid Res*. (1980) 19 1-22.

[49] FRANKEL, E. N. Antioxidants. Lipid Oxidation. Bridgwater. 2005.

[50] Li, X-Q., Ji ,C-b., Sun ,Y-Y., Yang, M-L., Chu ,XG . Capillary electrophoresis-amperometry determination of antioxidant propyl gallate and butylated hydroxy-anisole in foods Analytical Science 23 (2007) 6 713-717.

[51] BONDET, V., BRAND-WILLIAMS, W., et BERSET, C. Kinetics and mechanisms of antioxidant activity using the DPPH. free radical method. *LWT-Food Science and Technology*, 1997, vol. 30, no 6, p. 609-615.

[52] HERTOG, GL., FESKENS, Edith JM, KROMHOUT, D.*et al.* Dietary antioxidant flavonoids and risk of coronary heart disease: the Zutphen Elderly Study. The Lancet, 1993, vol. 342, no 8878, p. 1007-1011.

[53] DIAZ, M-N.., FREI, B., VITA, J-A., *et al.* Antioxidants and atherosclerotic heart disease. *New England Journal of Medicine*, 1997, vol. 337, no 6, p. 408-416.

[54] AMRO, B., ABURJAI, T., et AL-KHALIL, S. Antioxidative and radical scavenging effects of olive cake extract. *Fitoterapia*, 2002, vol. 73, no 6, p. 456-461.

[55] BENAVENTE-GARCIA, O., CASTILLO, J., LORENTE, J., *et al.* Antioxidant activity of phenolics extracted from Olea europaea L. leaves. Food Chemistry, 2000, vol. 68, no 4, p. 457-462.

[56] SAVOURNIN, C, Baghdikian B., Elias R., Dargouth-Kesraoui F., Boukef K., Balansard G. Rapid high-performance liquid chromatography analysis for the quantitative determination of oleuropein in Olea europaea leaves.J. J Agric Food Chem. 2001 Feb;49(2):618-21.

[57] FOSTER, N., MAMMUCARI, R., DEHGHANI, F., *et al.* Processing pharmaceutical compounds using dense gas technology. *Industrial & engineering chemistry research*, 2003, vol. 42, no 25, p. 6476-6493.

[58] PERRUT, M. Supercritical fluid extraction/fractionation: Industrial development and economic issues. *Industrial & engineering chemistry research*, 2000, vol. 39, n° 12, p. 4531-4535.

[59] GENENAL, A-K., HENSEL, H., ARTUR, S-J., DE SOUZA, S-M. Rosemary (Rosmarinus officinalis), a study of the composition, antioxidant and antimicrobial activities of extracts obtained with supercritical carbon dioxide. Ciênc. Tecnol. Aliment. vol.28 no.2 Campinas Aprz/June 2008

[60] BECKMAN, E-J. Supercritical and near-critical CO 2 in green chemical synthesis and processing. The Journal of Supercritical Fluids, 2004, vol. 28, no 2, p. 121-191.

[61] LUCAS, S., ALONSO, E., SANZ, J. A., *et al.* Safety Study in a Supercritical Extraction Plant. *Chemie Ingenieur Technik*, 2001, vol. 73, no 6, p. 725-725.

[62] *GUENTHER, E., The essential oils, Vol.1 Robert E. Krieger publishing company, Huntington N.Y, 1972.*

[63] SOVOVA, H.et PROCHAZKA, J. Calculations of compressed carbon dioxide viscosities. *Industrial & engineering chemistry research*, 1993, vol. 32, no 12, p. 3162-3169.

[64] BÜDICH, M., BRUNNER, G., HOFFMANN, S., *et al.* Données d'équilibre du système essence de peau d'orange/CO 2 supercritique. In : *Proc. 3rd Colloq. Fluid. Supercritiq., Grasse, Fr*. 1996. p. 29-30.

[65] *GRANGER, R., Passet, J. et al. (1973). Plantes médicinales à essences et chimiotaxonomie. In: XVIIIème Journée de l'Aromatique, Lourmarin*

[66] TAYLOR, M-K., YOUNG, T-M., BUTZKE, C-E., *et al.* Supercritical fluid extraction of 2, 4, 6-trichloroanisole from cork stoppers. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2000, vol. 48, no 6, p. 2208-2211.

[67] GÜÇLÜ-ÜSTÜNDAĞ, Ö et TEMELLI, F. Solubility behavior of ternary systems of lipids, cosolvents and supercritical carbon dioxide and processing aspects. *The Journal of supercritical fluids*, 2005, vol. 36, no 1, p. 1-15.

[68] MACÍAS-SÁNCHEZ, M-D., FERNANDEZ-SEVILLA, J-M., FERNÁNDEZ, FG Acién, *et al.* Supercritical fluid extraction of carotenoids from Scenedesmus almeriensis. *Food chemistry*, 2010, vol. 123, no 3, p. 928-935.

[69] SAENGCHAROENRAT, C et GUYER, D-E. Effects of supercritical carbon dioxide conditions on onion oil desorption. *Journal of food engineering*, 2004, vol. 63, no 1, p. 33-37.

[70] ROPKINS, K.et TAYLOR, A-J. The isolation of flavour compounds from foods by enhanced solvent extraction methods. *Special Publications of the Royal Society of Chemistry*, 1996, vol. 197, p. 297-300.

[71] GASPAR, F., LEEKE, G-A., AL-DURI, B., *et al.* Modelling the disruption of essential oils glandular trichomes with compressed CO 2. *The Journal of supercritical fluids*, 2003, vol. 25, no 3, p. 233-245.

[72] BERNAD, L., KELLER, A., BARTH, D., *et al.* Separation of ethanol from aqueous solutions by supercritical carbon dioxide—comparison between simulations and experiments. The Journal of Supercritical Fluids, 1993, vol. 6, no 1, p. 9-14.

[73] GOUPY, J. Modélisation par les plans d'expériences. *Techniques de l'ingénieur. Mesures et contrôle*, 2000, no R275, p. R275. 1-R275. 23.

[74] KAMOUN, A., CHAABOUNI M., M., AYEDI H.F., Plans d'expériences et traitements de surface (MSR), Techniques de l'ingénieur, Doc. M 1429, 1-24.

[75] VIVIER, S. Stratégies d'optimisation par la méthode des plans d'expériences et. Application aux dispositifs électrotechniques modélisés par éléments finis thèse. Mines de Paris (2009) 124

[76] GOUPY, J. L'Étude comparative de divers plans d'expériences. Revue de statistique appliquée, 1990, vol. 38, no 4, p. 5-44.

[77] VIGIER, M. Pratique des plans d'expériences : méthodologie Taguchi et compléments. Éditions de l'Organisation, 1991.

[78] DOEHLERT, D-H. Uniform shell designs. Applied statistics, 1970, p. 231-239.

[79] SOVOVÁ, H. Rate of the vegetable oil extraction with supercritical CO_2. Modelling of extraction curves. Chemical Engineering Science, 1994, vol. 49, no 3, p. 409-414.

[80] REVERCHON, E. Fractional separation of SCF extracts from marjoram leaves: mass transfer and optimization. The Journal of Supercritical Fluids, 1992, vol. 5, no 4, p. 256-261.

[81] Aguiar, A-C. Extração de Lipídios de Resíduos de Filetagem de Pescada- Olhuda (Cynoscionstriatus) Utilizando Tecnologia Supercrítica. Dissertação (Mestrado) - Programa de PósGraduação em Engenharia de Alimentos. Centro Tecnológico. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2011.

[82] Cunha M-A-E., Corrêa, N-C-F., França, L-F., Machado, N-T. Analysis of the Extent of Saturation Region of Porous Solid Matrix infixed Bed by SFE : Influence of Fixed Bed Height and Solvent Flow Rate on the Mass Transfer Kinetics. XVII Congresso Brasileiro de Engenharia Química. 2008.

[83] Santos, J-L. Projeto de uma Unidade de Extração Supercrítica Empregando Simulador de Processos. Dissertação (MestradoemEngenhariaQuímica). UniversidadeFederal do Pará. Belém 2007.

[84] MEZZOMO, N., MARTÍNEZ, J., et FERREIRA, R-S. Supercritical fluid extraction of peach (Prunus persica) almond oil: kinetics, mathematical modeling and scale-up. The Journal of Supercritical Fluids, 2009, vol. 51, no 1, p. 10-16.

[85] IVANOVIC, J., ZIZOVIC, Irena, RISTIC, Mihajlo, et al. The analysis of simultaneous clove/oregano and clove/thyme supercritical extraction. The Journal of Supercritical Fluids, 2011, vol. 55, no 3, p. 983-991.

[85] MARTÍNEZ, J., ROSA, P., MEIRELES, M., et al. Extraction of clove and vetiver oils with supercritical carbon dioxide: modeling and simulation. The Open Chemical Engineering Journal, 2007, vol. 1, no 1, p. 1-7.

[86] LANGA, E., CACHO, J., PALAVRA, A. M. F., et al. The evolution of hyssop oil composition in the supercritical extraction curve: modelling of the oil extraction process. The Journal of Supercritical Fluids, 2009, vol. 49, no 1, p. 37-44.

[87] MEZZOMO, Natália, DE PAZ, Esther, MARASCHIN, Marcelo, et al. Supercritical anti-solvent precipitation of carotenoid fraction from pink shrimp residue: Effect of operational conditions on encapsulation efficiency. The Journal of Supercritical Fluids, 2012, vol. 66, p. 342-349.

[88] CARVALHO, R-N., MOURA, Lucinewton S., ROSA, Paulo TV, et al. Supercritical fluid extraction from rosemary (Rosmarinus officinalis): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. The Journal of Supercritical Fluids, 2005, vol. 35, no 3, p. 197-204.

[89] MOURA, L-S., CARVALHO J-R., Raul N., STEFANINI, M-B., et al. Supercritical fluid extraction from fennel (Foeniculum vulgare): global yield, composition and kinetic data. The Journal of supercritical fluids, 2005, vol. 35, no 3, p. 212-219.

[90] GOTO, M., Hortacsu, O. Supercritical Thermal Decomposition of Cellulose: Experiments and Modeling, Ind. Eng. Chem. Res. 1990,29, 1091-1095
[91] REVERCHON, E. et MARRONE, C. Modeling and simulation of the supercritical CO 2 extraction of vegetable oils. The Journal of Supercritical Fluids, 2001, vol. 19, no 2, p. 161-175.
[92] GOTO, M., SATO, M., et HIROSE, T. Extraction of peppermint oil by supercritical carbon dioxide. Journal of Chemical Engineering of Japan, 1993, vol. 26, no 4, p. 401-407.
[93] SPRICIGO, C. B., BOLZAN, A., et PINTO, L-T. Mathematical modeling of nutmeg essential oil extraction by liquid carbon dioxide. Latin American Applied Research, 2001, vol. 31, p. 397-401.
[94] REISVASCO, E-M-C., COELHO, J. A. P., et PALAVRA, A-M-F. Comparison of pennyroyal oils obtained by supercritical CO_2 extraction and hydrodistillation. Flavour and fragrance journal, 1999, vol. 14, no 3, p. 156-160.
[95] KOVATS, E. Sz. Gas chromatographic characterization of organic substances in the retention index system. Adv. Chromatogr, 1965, vol. 1, p. 229-247.
[96] HAYDER, N., ABDELWAHED, A., KILANI, S., et al. Anti-genotoxic and free-radical scavenging activities of extracts from (Tunisian) Myrtus communis. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2004, vol. 564, no 1, p. 89-95.
[97] BLOIS, M-S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. 1958.
[98] KARABULUT, I. Effects of α-tocopherol, β-carotene and ascorbyl palmitate on oxidative stability of butter oil triacylglycerols. Food chemistry, 2010, vol. 123, no 3, p. 622-627.
[99] LOUIZA, M et BARAKAT, M. Development of a new margarine added essential oils of Citrus limon, OCL - Oilseeds and fats, Crops and Lipids, Volume 21, Number 1, January-February 2014
[100] MEHRAJ, A., SOOTTWAT, S-B., PUNNANEE, S., NILESH, P-N., Quality changes of sea bass slices wrapped with gelatin film incorporated with lemongrass essential oil, International Journal of Food Microbiology 155 (2012) 171–178
[101] FOLCH, J., LEES, M. & SLOANE, S. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. The Journal of biological chemistry. 226, 497-509.
[102] STONE, H., SIDEL, J., OLIVER, S., et al. Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis. Descriptive Sensory Analysis in Practice, 2008, p. 23-34.
[103] BEERENS, H et LUQUET, F-M. Guide pratique d'analyse microbiologique des laits et des produits laitiers. Technique et Documentation Lavoisier, 1987.
[104] POINTURIER, F., BAGLAN, N., et ALANIC, G. A method for the determination of low-level organic-bound tritium activities in environmental samples. Applied radiation and isotopes, 2004, vol. 61, no 2, p. 293-298.
[105] ANALYTIQUES, Bureau Interprofessionnel d'Études. Recueil des méthodes d'analyse des communautés européennes. BIPEA Gennevilliers, France 140p, 1976.
[106] FOEGEDING, E.-A. et DRAKE, M-A. Invited review: Sensory and mechanical properties of cheese texture. Journal of dairy science, 2007, vol. 90, no 4, p. 1611-1624.
[107] GASTALDI, E., PELLEGRINI, O., LAGAUDE, A., et al. Functions of added calcium in acid milk coagulation. Journal of food science, 1994, vol. 59, no 2, p. 310-312.
[108] COETZER, R-L-J., ROSSOUW, R-F., et LE ROUX, N-J. Efficient maximin distance designs for experiments in mixtures. Journal of Applied Statistics, 2012, vol. 39, no 9, p. 1939-1951.
[109] MITCHELL, T-J. An algorithm for the construction of "D-optimal" experimental designs. Technometrics, 2000, vol. 42, no 1, p. 48-54.
[110] COOK, R-D et NACHTRHEIM, C-J. A comparison of algorithms for constructing exact D-optimal designs. Technometrics, 1980, vol. 22, no 3, p. 315-324.
[111] MICHAEL, G-N., RICHARD, G. D-optimal (0, 1)-weighing designs for eight objects, Linear Algebra and its Applications 432 (2010) 2634–2657
[112] ZIEGEL, E. Applied Factorial and Fractional Designs. Technometrics, 1985, vol. 27, no 3, p. 315-316.
[113] PEREIRA, P., BERNARDO-GIL, M-G., CEBOLA, M-J., et al. Supercritical fluid extracts with antioxidant and antimicrobial activities from myrtle (Myrtus communis L.) leaves. Response surface optimization. The Journal of Supercritical Fluids, 2013, vol. 83, p. 57-64.
[114] ZERMANE, A., LARKECHE, O., MENIAI, A.-H., et al. Optimization of essential oil supercritical extraction from Algerian Myrtus communis L. leaves using response surface methodology. The Journal of Supercritical Fluids, 2014, vol. 85, p. 89-94.
[115] SAJFRTOVA, M., SOVOVA, H., KARBAN, J., et al. Effect of separation method on chemical composition and insecticidal activity of Lamiaceae isolates. Industrial Crops and Products, 2013, vol. 47, p. 69-77.
[116] HERZI, N., CAMY, S., BOUAJILA, J et al. Supercritical CO_2 extraction of Tetraclinis articulata: Chemical composition, antioxidant activity and mathematical modeling. The Journal of Supercritical Fluids, 2013, vol. 82, p. 72-82.
[117] BOCEVSKA, M. et SOVOVÁ, H. Supercritical CO_2 extraction of essential oil from yarrow. The Journal of supercritical fluids, 2007, vol. 40, no 3, p. 360-367.
[118] DONELIAN, A., CARLSON, L- H-C., LOPES, T-J., et al. Comparison of extraction of patchouli (Pogostemon cablin) essential oil with supercritical CO_2 and by steam distillation. The Journal of Supercritical Fluids, 2009, vol. 48, no 1, p. 15-20.
[119] ROSA, P-T-V et MEIRELES, M. Angela A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction. Journal of Food Engineering, 2005, vol. 67, no 1, p. 235-240.

[120] TURTON, R., BAILIE, R-C., WHITING, Wallace B., et al. Analysis, synthesis and design of chemical processes. Pearson Education, 2008.
[121] CARVALHO, R-N., MOURA, L-S., ROSA, P-T-V, et al. Supercritical fluid extraction from rosemary (Rosmarinus officinalis): Kinetic data, extract's global yield, composition, and antioxidant activity. The Journal of Supercritical Fluids, 2005, vol. 35, no 3, p. 197-204.
[122] BRUNNER, G. Gas extraction: an introduction to fundamentals of supercritical fluids and the application to separation processes. Springer Science & Business Media, 2013.
[123] FIORI, L. Supercritical extraction of grape seed oil at industrial-scale: plant and process design, modeling, economic feasibility. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2010, vol. 49, no 8, p. 866-872.
[124] ZIBETTI, A-W., AYDI, A., LIVIA, M-A Et al. Solvent extraction and purification of rosmarinic acid from supercritical fluid extraction fractionation waste: Economic evaluation and scale-up. The Journal of Supercritical Fluids, 2013, vol. 83, p. 133-145.
[125] PEREIRA, C-G et MEIRELES, M- A. Economic analysis of rosemary, fennel and anise essential oils obtained by supercritical fluid extraction. Flavour and Fragrance Journal, 2007, vol. 22, no 5, p. 407-413.
[126] PRADO, I-M. do Prado. Uso de simulador no estudo de aumento de escala e viabili-dade econômica do processo de extrac¸ ão supercrítica de produtos naturais, UNICAMP, 2009.
[127] SHARIATY-NIASSAR, M., AMINZADEH, B., AZADI, Pet al. Economic evaluation of herb extraction using supercritical fluid. Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly, 2009, vol. 15, no 3, p. 143-148.
[128] ROSA, P-T-V-R., MEIRELES, M-A-A. Rapid estimation of the manufacturing cost of extracts obtained by supercritical fluid extraction, Journal of Food Engineering 67 (2005) 235–240.
[129] PETERSEN, Met SIMMONDS, M-S-J. Rosmarinic acid. Phytochemistry, 2003, vol. 62, no 2, p. 121-125.
[130] PETERS, M-S., TIMMERHAUS, K-D., WEST, W-E, et al. Plant design and economics for chemical engineers. New York: McGraw-Hill, 1968.
[131] SHARIATY-NISSAR, M., AMINZADEH, B., AZADI, P., SOLTANALI, S. Economic evaluation of herb extraction using supercritical fluid, Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly 15 (2009) 143–148.
[132] GUIMARES, A-G., QUINTANS, J-S-S and QUINTQNS-JUNIOR, L-J . Monoterpenes with Analgesic Activity—A Systematic Review, PHYTOTHERAPY RESEARCH Phytother. Res. 27: 1–15 (2013)
[133] Deans, G-R. Antibacterial properties of plant essential oils, International Journal of Food Microbiology, Volume 5, Issue 2, 1987, Pages 165-180,
[134] LIS-BALCHIN, M et HART, S. Studies on the mode of action of the essential oil of lavender (Lavandula angustifolia P. Miller). Phytother. Res,1999.13, 540-542.
[135] Mallia, S., Piccinali, P., Rehberger, B., Badertscher, R., Escher, F., & Schlichtherle-Cerny, H. (Determination of storage stability of butter enriched with unsaturated fatty acids/conjugated linoleic acids (UFA/CLA) using instrumental and sensory methods. International Dairy Journal, 2008,18(10), 983-993.
[136] Özkanli, O., Kaya, A., 2005. Storage stability of butter oils produced from sheep's non-pasteurized and pasteurized milk. Food Chemistry, 100(3), 1026–1031.
[137] JOSHI, N. S., THAKAR, P. N., et JANA, A. H. Utilization of Butter milk in Cheese making. Indian Food Packer, 1994, vol. 48, p. 59-64.
[138] MUIR, D., BRAEKEVELT, E., TOMY, G, et al. Medium chain chlorinated paraffins in Great Lakes food webs. Organohalogen compounds, 2003, vol. 64, p. 166-169.
[139] KRITCHEVSKI, S-B et KRITCHEVSKI, D. Egg consumption and coronary heart disease: an epidemiologic review. Journal of the American College of Nutrition,2000, 19(5 Suppl):549S-555S.
[140] REISCHE, D-W., LILLAR, D-A. and EITENMILLER, R-R. Antioxidants. IN food Chemistry, Nutrition and Biotechnology, Marcel Dekker, New York, 489-516.
[141] ZEB, A et MURKOVIC, M. Characterization of the effects of β-carotene on the thermal oxidation of triacylglycerols using HPLC-ESI-MS. European journal of lipid science and technology, 2010, vol. 112, no 11, p. 1218-1228.
[142] SUBAGIO, A. et MORITA, N. Instability of carotenoids is a reason for their promotion on lipid oxidation. Food research international, 2001, vol. 34, no 2, p. 183-188.
[143] RAMADAN, M-F, KINNI, S-G., RAJANNA, L-N., et al. Fatty acids, bioactive lipids and radical scavenging activity of Celastrus paniculatus Willd. seed oil. Scientia Horticulturae, 2009, vol. 123, no 1, p. 104-109.
[144] SAMET-BALI, O., AYADI, M-A., et ATTIA, H. Traditional Tunisian butter: Physicochemical and microbial characteristics and storage stability of the oil fraction. LWT-Food Science and Technology, 2009, vol. 42, no 4, p. 899-905.
[145] FEARON, A-M., MAYNE, C-S, et CHARLTON, C-T. Effect of naked oats in the dairy cow's diet on the oxidative stability of the milk fat. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1998, vol. 76, no 4, p. 546-552.
[146] KARABULUT, I. Effects of α-tocopherol, β-carotene and ascorbyl palmitate on oxidative stability of butter oil triacylglycerols. Food chemistry, 2010, vol. 123, no 3, p. 622-627.
[147] KENNEDY, T-A. et LIEBLER, D-C. Peroxyl radical oxidation of. beta. -carotene: formation of. beta. -carotene epoxides. Chemical research in toxicology, 1991, vol. 4, no 3, p. 290-295.
[148] AMIRDIVANI, S et BABA, A-S. Changes in yogurt fermentation characteristics, and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. LWT-Food Science and Technology, 2011, vol. 44, no 6, p. 1458-1464.

[149] SANDINE, W-E et ELLIKER, P-R. Microbially induced flavors and fermented foods, / Agric. Food Chem., l 8, 557, l970.

[150] KAILASAPATHY, K. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. LWT-Food Science and Technology, 2006, vol. 39, no 10, p. 1221-1227.

[151] GEIDAM, Y. A., AMBALI, A-G., et ONYEYILI, P-A. Preliminary phytochemical and antibacterial evaluation of crude aqueous extract of Psidium guajava leaf. Journal of Applied Sciences, 2007, vol. 7, p. 511-514.

[152] BILLARD, I., MEKKI, S., OUADI, A., et al. TTA solvation kinetics in the ionic liquid BumimTf 2 N. Comptes Rendus Chimie, 2007, vol. 10, no 10, p. 1117-1121.

[153] JAZIRI, I., SLAMA, M., MHADHBI, H., et al. Effect of green and black teas (Camellia sinensis L.) on the characteristic microflora of yogurt during fermentation and refrigerated storage. Food Chemistry, 2009, vol. 112, no 3, p. 614-620.

[154] MCCUE, P et SHETTY, K. Role of carbohydrate-cleaving enzymes in phenolic antioxidant mobilization from whole soybean fermented with Rhizopus oligosporus. Food biotechnology, 2003, vol. 17, no 1, p. 27-37.

[155] KACHOURI, F et HAMDI, M. Use Lactobacillus plantarum in olive oil process and improvement of phenolic compounds content. Journal of food engineering, 2006, vol. 77, no 3, p. 746-752.

[156] COÏSSON, J. D., TRAVAGLIA, F., PIANA, G., et al. Euterpe oleracea juice as a functional pigment for yogurt. Food Research International, 2005, vol. 38, no 8, p. 893-897.

[157] REGUANT, C., BORDONS, A., AROLA, L., et al. Influence of phenolic compounds on the physiology of Oenococcus oeni from wine. Journal of Applied Microbiology, 2000, vol. 88, no 6, p. 1065-1071.

[158] VIVAS, N., AUGUSTIN, M., et LONVAUD-FUNEL, A. Influence of oak wood and grape tannins on the lactic acid bacterium Oenococcus oeni (Leuconostoc oenos, 8413). Journal of the Science of Food and Agriculture, 2000, vol. 80, no 11, p. 1675-1678.

[159] CUEVAS-RAMOS, G., PETIT, C-R., MARCQ, I et al. Escherichia coli induces DNA damage in vivo and triggers genomic instability in mammalian cells. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, vol. 107, no 25, p. 11537-11542.

[160] LARROSA, M., YAÑÉZ-GASCÓN, M-J., SELMA, M-V., et al. Effect of a low dose of dietary resveratrol on colon microbiota, inflammation and tissue damage in a DSS-induced colitis rat model. Journal of agricultural and food chemistry, 2009, vol. 57, no 6, p. 2211-2220.

[161] LAPARRA, J-M et SANZ, Y. Interactions of gut microbiota with functional food components and nutraceuticals. Pharmacological Research, 2010, vol. 61, no 3, p. 219-225.

[162] SETO, R., NAKAMURA, H., NANJO, F., et al. Preparation of epimers of tea catechins by heat treatment. Bioscience, biotechnology, and biochemistry, 1997, vol. 61, no 9, p. 1434-1439.

[163] VIVEROS, A., CHAMORRO, S., PIZARRO, M., et al. Effects of dietary polyphenol-rich grape products on intestinal microflora and gut morphology in broiler chicks. Poultry science, 2011, vol. 90, no 3, p. 566-578.

[164] BURT, S. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. International journal of food microbiology, 2004, vol. 94, no 3, p. 223-253.

[165] SIMOPOULOS, A-P. Omega-3 fatty acids in inflammation and autoimmune diseases. Journal of the American College of Nutrition, 2002, vol. 21, no 6, p. 495-505.

[166] MASNIYOM, P., BENJAKUL, S., et VISESSANGUAN, W. Shelf-life extension of refrigerated seabass slices under modified atmosphere packaging. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002, vol. 82, no 8, p. 873-880.

[167] SALLAM, K-I., AHMED, A-M., ELGAZZAR, M-M., et al. Chemical quality and sensory attributes of marinated Pacific saury (Cololabis saira) during vacuum-packaged storage at 4 C. Food Chemistry, 2007, vol. 102, no 4, p. 1061-1070.

[168] ZEISEL, S-H., DACOSTA, K-A, et FOX, J-G. Endogenous formation of dimethylamine. Biochem. J, 1985, vol. 232, p. 403-408.

[169] HOZBOR, M-C., SAIZ, A-I., YEANNES, M-I., et al. Microbiological changes and its correlation with quality indices during aerobic iced storage of sea salmon (Pseudopercis semifasciata). LWT-Food Science and Technology, 2006, vol. 39, no 2, p. 99-104.

[170] HUSS, H- H. Fresh fish--quality and quality changes: a training manual prepared for the FAO/DANIDA Training Programme on Fish Technology and Quality Control. Food & Agriculture Org., 1988.

[171] KILINC, Bet CAKLI, S. Determination of the shelf life of sardine (Sardina pilchardus) marinades in tomato sauce stored at 4 C. Food Control, 2005, vol. 16, no 7, p. 639-644.

[172] LI, T., L., JIANRONG, H-U., WENZHONG, et al. Quality enhancement in refrigerated red drum (Sciaenops ocellatus) fillets using chitosan coatings containing natural preservatives. Food chemistry, 2013, vol. 138, no 2, p. 821-826.

[173] AHMAD, Mehraj, BENJAKUL, Soottawat, PRODPRAN, Thummanoon, et al. Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leatherjacket incorporated with essential oils. Food Hydrocolloids, 2012, vol. 28, no 1, p. 189-199.

[174] LEE, K-W et LIP, G. Y. H. The role of omega-3 fatty acids in the secondary prevention of cardiovascular disease. QJM: An International Journal of Medicine, 2003, vol. 96, no 7, p. 465-480.

[175] FRANKEL, E-N., BOSANEK, C-A., MEYER, A-S., et al. Commercial grape juices inhibit the in vitro oxidation of human low-density lipoproteins. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, vol. 46, no 3, p. 834-838.

[176] HSIEH, R-J. et KINSELLA, J-E. Oxidation of polyunsaturated fatty acids : mechanisms, products, and inhibition with emphasis on fish. Adv Food Nutr Res, 1989, vol. 33, p. 233-341.

[177] GIMÉNEZ, B., RONCALÉS, P., et BELTRÁN, J-A. The effects of natural antioxidants and lighting conditions on the quality characteristics of gilthead sea bream fillets (Sparus aurata) packaged in a modified atmosphere. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2004, vol. 84, no 9, p. 1053-1060.

[178] SERDAROĞLU, M et FELEKOĞLU, E Effects of using rosemary extract and onion juice on oxidative stability of sardine (Sardina pilchardus) mince. Journal of Food Quality, 2005, vol. 28, no 2, p. 109-120.
[179] VARELTZIS, P et HULTIN, H-O. Effect of low pH on the susceptibility of isolated cod (Gadus morhua) microsomes to lipid oxidation. Journal of agricultural and food chemistry, 2007, vol. 55, no 24, p. 9859-9867.
[180] TSIMIDOU, M., PAPAVERGOU, E., et BOSKOU, D. Evaluation of oregano antioxidant activity in mackerel oil. Food research international, 1995, vol. 28, no 4, p. 431-433.
[181] OUSSALAH, M., CAILLET, S., SAUCIER, L., LACROIX, M. Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. Meat Sci. 2006; 73:236–244.

ANNEXES

ANNEXE 1

(ALGORITHME DETMAX)

N.-K. Nguyen, A.J. Miller, A review of some exchange alogrithms for constructng discrete D-optimal designs, Comput. Stat. Data Anal. 14 (1992) 489–498.

Lemma 1

The inverse matrix of $\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}$ is $\boldsymbol{I}-\dfrac{\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}}{1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}}$

Proof

$$\left(\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\right)\left(\boldsymbol{I}-\frac{\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}}{1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}}\right)=\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}-\frac{\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}}{1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}}-\frac{\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}}{1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}}=\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}-\frac{\left(1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}\right)\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}}{1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}}=\boldsymbol{I}$$

N.B. : In a same way $\left(\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\right)^{-1}=\boldsymbol{I}+\dfrac{\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}}{1-\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}}$ if $w^Tw<1$.

Lemma 2

$$\det\left(\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\right)=1+\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{w}$$

Proof

Let the Cholesky decomposition of $I+ww^T$ be TT^T, and in a same way $\boldsymbol{w}^{\bullet}=\begin{pmatrix}\boldsymbol{w}\\ \alpha\end{pmatrix}$ where α is scalar. We have :

$$\boldsymbol{I}+\boldsymbol{w}^{\bullet}\boldsymbol{w}^{\bullet\boldsymbol{T}}=\begin{pmatrix}\boldsymbol{T}\boldsymbol{T}^{\boldsymbol{T}} & \alpha\boldsymbol{w}\\ \alpha\boldsymbol{w}^{\boldsymbol{T}} & 1+\alpha^2\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}\boldsymbol{T} & 0\\ \boldsymbol{v}^{\boldsymbol{T}} & \beta\end{pmatrix}\begin{pmatrix}\boldsymbol{T}^{\boldsymbol{T}} & \boldsymbol{v}\\ 0 & \beta\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}\boldsymbol{T}\boldsymbol{T}^{\boldsymbol{T}} & \boldsymbol{T}\boldsymbol{v}\\ \boldsymbol{v}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{T}^{\boldsymbol{T}} & \boldsymbol{v}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{v}+\beta^2\end{pmatrix}$$

So :

$\boldsymbol{v} = \alpha \boldsymbol{T}^{-1} \boldsymbol{w}$

$\beta^2 = 1 + \alpha^2 - \alpha^2 \boldsymbol{w}^T \left(\boldsymbol{T}\boldsymbol{T}^T \right)^{-1} \boldsymbol{w}$

Hypothesis : $\det\left(\boldsymbol{I} + \boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^T \right) = 1 + \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w}$

$$\det\left(\boldsymbol{I} + \boldsymbol{w}^{\bullet} \boldsymbol{w}^{\bullet T} \right) = \left(\beta \det \boldsymbol{T} \right)^2 = \beta^2 \left(1 + \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w} \right) = \left(1 + \alpha^2 - \alpha^2 \boldsymbol{w}^T \left(\boldsymbol{I} + \boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^T \right)^{-1} \boldsymbol{w} \right)\left(1 + \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w} \right)$$

The lemma 1 gives :

$$\det\left(\boldsymbol{I} + \boldsymbol{w}^{\bullet} \boldsymbol{w}^{\bullet T} \right) = \left(1 + \alpha^2 - \alpha^2 \boldsymbol{w}^T \left(\boldsymbol{I} - \frac{\boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^T}{1 + \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w}} \right) \boldsymbol{w} \right)\left(1 + \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w} \right) = 1 + \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w} + \alpha^2 = 1 + \boldsymbol{w}^{\bullet T} \boldsymbol{w}^{\bullet}$$

N.B. : In a same way $\det\left(\boldsymbol{I} - \boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^T \right) = 1 - \boldsymbol{w}^T \boldsymbol{w}$ if $w^T w<1$.

Lemma 3

$$\det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} + \boldsymbol{x}\boldsymbol{x}^T \right) = \det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right)\left(1 + \boldsymbol{x}^T \left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right)^{-1} \boldsymbol{x} \right)$$

Proof

$X^T X$ must be a positive definite matrix an its Cholesky decomposition is :

$X^T X = CC^T$ where*C* is a triangular matrix.

$$X^T X + xx^T = CC^T + xx^T = C\left(I + C^{-1} x x^T C^{-T} \right) C^T$$

So $\det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{x} + \boldsymbol{x}\boldsymbol{x}^T \right) = \det\left(\boldsymbol{I} + \boldsymbol{C}^{-1} \boldsymbol{x}\boldsymbol{x}^T \boldsymbol{C}^{-T} \right)\left(\det \boldsymbol{C} \right)^2 = \det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right) \det\left(\boldsymbol{I} + \boldsymbol{w}\boldsymbol{w}^T \right)$

with $w = C^{-1} x$. The lemma 2 gives :

$$\det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} + \boldsymbol{x}\boldsymbol{x}^T \right) = \det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right)\left(1 + \boldsymbol{x}^T \left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right)^{-1} \boldsymbol{x} \right)$$

N.B. : In a same way $\det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} - \boldsymbol{x}\boldsymbol{x}^T \right) = \det\left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right)\left(1 - \boldsymbol{x}^T \left(\boldsymbol{X}^T \boldsymbol{X} \right)^{-1} \boldsymbol{x} \right)$

Lemma 4

If *B* is a positive definite matrix:

$$\left(\boldsymbol{B}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\right)^{-1}=\boldsymbol{B}^{-1}-\frac{\boldsymbol{B}^{-1}\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{B}^{-1}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{B}^{-1}\boldsymbol{y}}$$

Proof

The Cholesky decomposition gives $\boldsymbol{B}=\boldsymbol{T}\boldsymbol{T}^{\boldsymbol{T}}$

$$\left(\boldsymbol{B}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\right)^{-1}=\left(\boldsymbol{T}\boldsymbol{T}^{\boldsymbol{T}}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\right)^{-1}=\boldsymbol{T}^{-\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{I}+\boldsymbol{T}^{-1}\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{T}^{-\boldsymbol{T}}\right)^{-1}\boldsymbol{T}^{-1}$$

With the lemma 1 we have:

$$\left(\boldsymbol{B}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\right)^{-1}=\boldsymbol{T}^{-\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{I}-\frac{\boldsymbol{T}^{-1}\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{T}^{-\boldsymbol{T}}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{T}^{-\boldsymbol{T}}\boldsymbol{T}^{-1}\boldsymbol{y}}\right)=\boldsymbol{B}^{-1}-\frac{\boldsymbol{B}^{-1}\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{B}^{-1}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{B}^{-1}\boldsymbol{y}}$$

Lemma 5

When we want, in the matrix *Y* of an experimental design, replaced a vector *z* of *Y* by a vector *y* (which gives the new matrix *X*), we have :

$$\det\left(\boldsymbol{X}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{X}\right)=\det\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)\left(1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}\right)\left(1-\boldsymbol{z}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{z}+\frac{\left(\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{z}\right)^{2}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}}\right)$$

Proof

$$\boldsymbol{X}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{X}=\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{y}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}-\boldsymbol{z}\boldsymbol{z}^{\boldsymbol{T}}$$

Z is the matrix *Y* where the vector *y* is added, $\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}=\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}$. So $\boldsymbol{X}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{X}=\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}-\boldsymbol{z}\boldsymbol{z}^{\boldsymbol{T}}$.

The lemma 3 gives :

$$\det\left(\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}\right)=\det\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)\left(1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}\right)\text{ and }\det\left(\boldsymbol{X}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{X}\right)=\det\left(\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}\right)\left(1-\boldsymbol{z}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}\right)^{-1}\boldsymbol{z}\right)$$

But with the lemma 4 we have : $\left(\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}\right)^{-1}=\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}+\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\right)^{-1}=\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}-\frac{\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}}$

So : $\det\left(\boldsymbol{X}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{X}\right)=\det\left(\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}\right)\left(1-\boldsymbol{z}^{\boldsymbol{T}}\left(\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}-\frac{\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}}\right)^{-1}\boldsymbol{z}\right)$

$$\det\left(\boldsymbol{X}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{X}\right)=\det\left(\boldsymbol{Z}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Z}\right)\left(1-\boldsymbol{z}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{z}+\frac{\left(\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{z}\right)^{2}}{1+\boldsymbol{y}^{\boldsymbol{T}}\left(\boldsymbol{Y}^{\boldsymbol{T}}\boldsymbol{Y}\right)^{-1}\boldsymbol{y}}\right)$$

ANNEXE 2

Principe du maximum de vraisemblance appliqué à un ensemble de mesures de variances inconnues et a priori différentes.

Likelyhood maximum method

J.E. Spindel, E. Haibach, The method of maximum likelihood applied to the statistical analysis of fatigue data, International Journal of Fatigue, Volume 1, Issue 2, 1979, Pages 81-88

On dispose d'un certain nombre de mesures expérimentales réparties en **m** catégories différentes, par exemple en microélectronique des mesures de C(V), courant sous le seuil, tension de seuil, pente sous le seuil, transconductance, $R_{carré}$, etc…. Pour chacune de ces catégories, on cherche à ajuster un modèle semi-analytique dont la forme est donné a priori et qui dépend d'un même vecteur paramètre θ à $\mathbf{n_\theta}$ composantes et commun à toutes la catégories de mesures (par exemple la répartition des dopants actifs, les géométries, les travaux de sorties, les mobilités, …).

Le modèle statistique pour la $j^{ème}$ catégorie est :

$$y_j(x_{i,j}) = \hat{y}_j(x_{i,j},\theta) + \varepsilon_{i,j}$$

où $y_j(x_{i,j})$ est le résultat de mesure de la $i^{ème}$ observation de la $j^{ème}$catégorie de mesure.

et $\hat{\mathbf{y}}_\mathbf{j}(\mathbf{x_{i,j}},\theta)$est la valeur du $j^{ème}$modèle analytique dont la forme est donnée a priori et dépend de manière continue et dérivable des paramètres θ inconnus. Dans notre cas, les $\hat{\mathbf{y}}_\mathbf{j}(\mathbf{x_{i,j}},\theta)$ sont estimés en faisant tourner des codes d'éléments finis, ce qui peut prendre un temps CPU non négligeable.

Les x_i sont supposés certains (pas d'incertitude sur les x_i).

$\varepsilon_{i,j}$est le bruit, modélisé par un tirage d'une variable aléatoire suivant une loi normale de moyenne nulle et de variance V_j inconnue a priori. Les divers tirages sont supposés indépendants les uns des autres.

Pour les catégories j = 1 à p, on suppose que la variance V_j ne dépend que de la catégorie j.

Pour les catégories j = p+1 à m, on suppose que la variance V_j peut se mettre sous la forme :

$$V_j = a_j \cdot \left|\hat{y}_j\left(x_{i,j},\theta\right)\right|^{b_j}$$

Les coefficients $a_j$et b_j étant inconnus a priori. Cela signifie que pour les catégories j = p+1 à m l'incertitude est fortement liée à la valeur absolue de la mesure. On suppose de plus que le signe de $\hat{\mathbf{y}}_\mathbf{j}(\mathbf{x_{i,j}},\theta)$ est constant au sein des m-p catégories de variance variable.

Il y a n_j mesures de catégorie j. Il y a donc au total $n_e = \sum_{j=1}^{m} n_j$ mesures indépendantes.

Le problème posé est de savoir comment obtenir de "bonnes" estimations (non biaisées, de variance minimale) des paramètres θ (et accessoirement des variances V_j et des coefficients $a_j$et b_j).

La vraisemblance L de l'ensemble des observations obtenues est égale au produit des fonctions de densités de probabilité de chaque tirage de la variable aléatoire représentant le bruit :

$$L=\prod_{j=1}^{p}\prod_{i=1}^{n_j}\frac{1}{\sqrt{2\pi V_j}}\exp\left[\frac{-\varepsilon_{i,j}{}^2}{2V_j}\right]\cdot\prod_{j=p+1}^{m}\prod_{i=1}^{n_j}\frac{1}{\sqrt{2\pi a_j\left|\hat{y}_j\left(x_{i,j},\theta\right)\right|^{b_j}}}\exp\left[\frac{-\varepsilon_{i,j}{}^2}{2a_j\left|\hat{y}_j\left(x_{i,j},\theta\right)\right|^{b_j}}\right]$$

On cherche à trouver les estimations $\hat{\theta}$ de θ ,$\hat{V}_j$ de V_j, $\hat{a}_j$de a_j et $\hat{b}_j$ de $b_j$qui maximisent la vraisemblance L ou, ce qui revient au même, son logarithme : $M=Ln(L)$:

$$\begin{aligned}2\cdot M=&-neLn(2\pi)-\sum_{j=1}^{p}nj\cdot Ln(Vj)-\sum_{j=1}^{p}\left[\frac{1}{Vj}\sum_{i=1}^{n_j}\left(\hat{y}j\left(xi,j,\theta\right)-yj\left(xi,j\right)\right)^2\right]\\&-\sum_{j=p+1}^{m}nj\cdot Ln(aj)-\sum_{j=p+1}^{m}bj\cdot\sum_{i=1}^{n_j}Ln\left(\left|\hat{y}j\left(xi,j,\theta\right)\right|\right)-\sum_{j=p+1}^{m}\left[\frac{1}{aj}\sum_{i=1}^{n_j}\frac{\left(\hat{y}j\left(xi,j,\theta\right)-yj\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}j\left(xi,j,\theta\right)\right|^{bj}}\right]\end{aligned}$$

M étant une fonction continue et dérivable des V_j,a_j et b_j,le maximum de M est obtenu en annulant les dérivés de M en fonction des V_j, a_j et b_j:

$$2\cdot\frac{\partial M}{\partial Vj}=-\frac{nj}{\hat{V}j}+\left[\frac{\sum_{i=1}^{n_j}\left(\hat{y}j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)-yj\left(xi,j\right)\right)^2}{Vj^2}\right]=0$$

d'où :

$$\hat{V}j=\frac{\sum_{i=1}^{n_j}\left(\hat{y}j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)-yj\left(xi,j\right)\right)^2}{nj}\text{ pour j=1 à p}$$

De même :

$$2\cdot\frac{\partial M}{\partial aj}=-\frac{nj}{\hat{a}j}+\frac{\sum_{i=1}^{n_j}\frac{\left(\hat{y}j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)-yj\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|^{\hat{b}j}}}{\hat{a}j^2}=0$$

D'où :

$$\hat{a}j = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} \frac{\left(\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right) - y_j\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|^{\hat{b}_j}}}{nj} \text{ pour j = p+1 à m}$$

De même :

$$2\cdot\frac{\partial M}{\partial bj} = -\sum_{i=1}^{n_j} Ln\left(\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|\right) + \frac{\sum_{i=1}^{n_j} \frac{\left(\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right) - y_j\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|^{\hat{b}_j}} \cdot Ln\left(\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|\right)}{\hat{a}j} = 0$$

d'où :

$$\hat{a}j = \frac{\sum_{i=1}^{n_j} \frac{\left(\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right) - y_j\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|^{\hat{b}_j}} \cdot Ln\left(\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|\right)}{\sum_{i=1}^{n_j} Ln\left(\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|\right)} \text{ pour j = p+1 à m}$$

En égalant ces deux expressions obtenues pour a_j , on obtient une condition sur b_j , à partir de laquelle on peut théoriquement obtenir a_j : b_j est en effet l'exposant tel que la moyenne simple et la moyenne pondérée par $Ln(\hat{y}_j(x_{i,j},\theta))$de $\frac{\left(\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right) - y_j\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\hat{\theta}\right)\right|^{\hat{b}_j}}$ soient égales (et valent toutes deux a_j) .

En affectant à Vj, j=1 à p et à aj , j=p+1 à m les valeurs déterminées ci-dessus, le log de la vraisemblance M peut s'écrire :

$$2\cdot M = -ne\,Ln(2\pi) - \sum_{j=1}^{p} nj\cdot Ln\left(\sum_{i=1}^{n_j}\left(\hat{y}_j\left(xi,j,\theta\right) - y_j\left(xi,j\right)\right)^2\right) + \sum_{j=1}^{p} nj\cdot Ln\left(nj\right) - \sum_{j=1}^{p} nj$$
$$- \sum_{j=p+1}^{m} nj\cdot Ln\left(\sum_{i=1}^{n_j}\frac{\left(\hat{y}_j\left(xi,j,\theta\right) - y_j\left(xi,j\right)\right)^2}{\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\theta\right)\right|^{b_j}}\right) + \sum_{j=p+1}^{m} nj\cdot Ln\left(nj\right) - \sum_{j=p+1}^{m} bj\cdot\sum_{i=1}^{n_j} Ln\left(\left|\hat{y}_j\left(xi,j,\theta\right)\right|\right) - \sum_{j=p+1}^{m} nj$$

Maximiser la vraisemblance L est donc équivalent à minimiser la quantité M'définie par :

$$M' = \sum_{j=1}^{p} nj \cdot Ln\left(\sum_{i=1}^{n_j} \left(\hat{y}j(xi,j,\theta) - yj(xi,j) \right)^2 \right) +$$

$$\sum_{j=p+1}^{m} nj \cdot Ln\left(\sum_{i=1}^{n_j} \frac{\left(\hat{y}j(xi,j,\theta) - yj(xi,j) \right)^2}{\left| \hat{y}j(xi,j,\theta) \right|^{bj}} \right) + \sum_{j=p+1}^{m} bj \cdot \sum_{i=1}^{n_j} Ln\left(\left| \hat{y}j(xi,j,\theta) \right| \right)$$

(Les valeurs de θet b_j obtenues en minimisant M' sont les mêmes que celles obtenues en maximisant L)

Les inconnues de ce système sont les n_θ paramètres de θ . Les m-p valeurs b_j peuvent être trouvées en égalant les deux moyennes (pondérées et non pondérées) de $\frac{\left(\hat{y}_j\left(x_{i,j},\theta\right) - y_j\left(x_{i,j},\theta\right) \right)^2}{\left| \hat{y}_j\left(x_{i,j},\theta\right) \right|^{b_j}}$. En pratique il est préférable de fixer à priori les valeurs de b_j (à 2 par exemple), car l'optimisation peut être plus difficile lorsque ces valeurs sont inconnues (minimisation de M' sous les contraintes d'égalité des 2 moyennes).

Le nombre de degré de liberté disponibles est $n_e - n_\theta - p - 2*(m-p) + 1 = n_e - n_\theta + p - 2m + 1$

Dans notre cas, l'estimation de la fonction $\hat{y}j(x_{i,j},\theta)$ se fait par éléments finis et est donc assez longue. Une stratégie logique de recherche serait donc de faire les itérations principales sur les valeurs de θ, et de, soit déterminer numériquement les m-p valeurs de b_j à chaque itération, soit les fixer à 2 si c'est possible.

ANNEXE 3

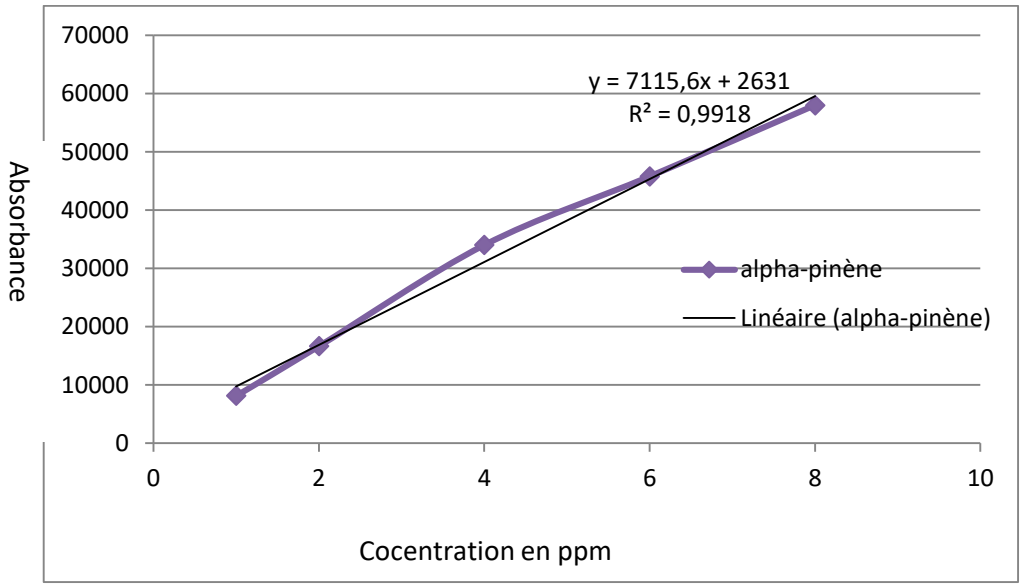
Pour s'assurer qu'ils n'existent pas des points aberrants dans l'ensemble des points obtenus pour le traçage des courbes, le test d'homogénéité des variances (test de Cochran) donnant pour chaque composé les résultats suivants :

- L'α-pinène :

$C < C_{crit}$ (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon de l'α-pinène.

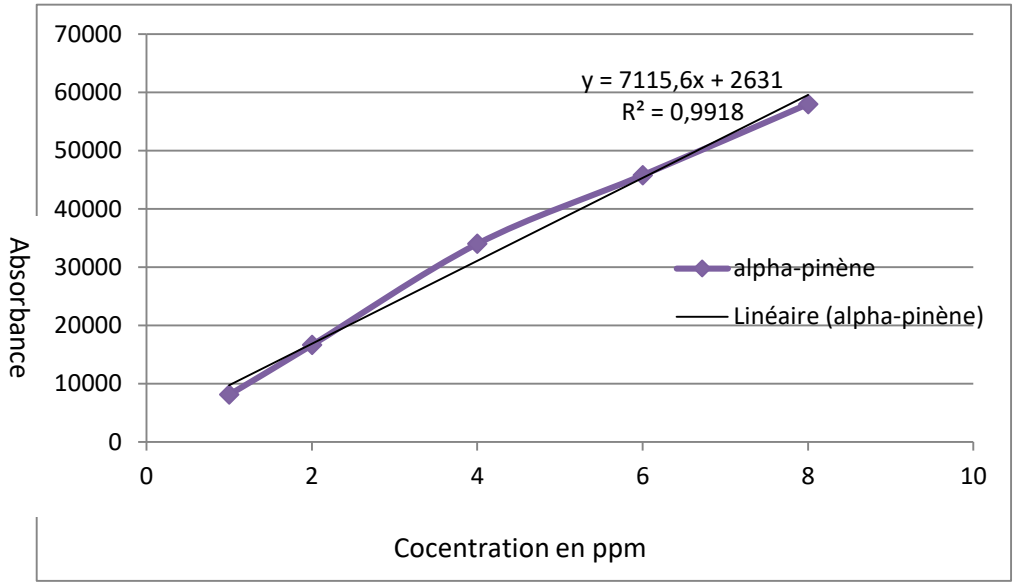
$C < C_{crit}$ (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon de l'α-pinène.

D'où avec ces points la courbe d'étalonnage peut être tracée.



Courbe d'étalonnage α–pinène

La courbe d'étalonnage a un coefficient de régression linéaire R² supérieur à 0,99 donc elle donnera des résultats fiables.

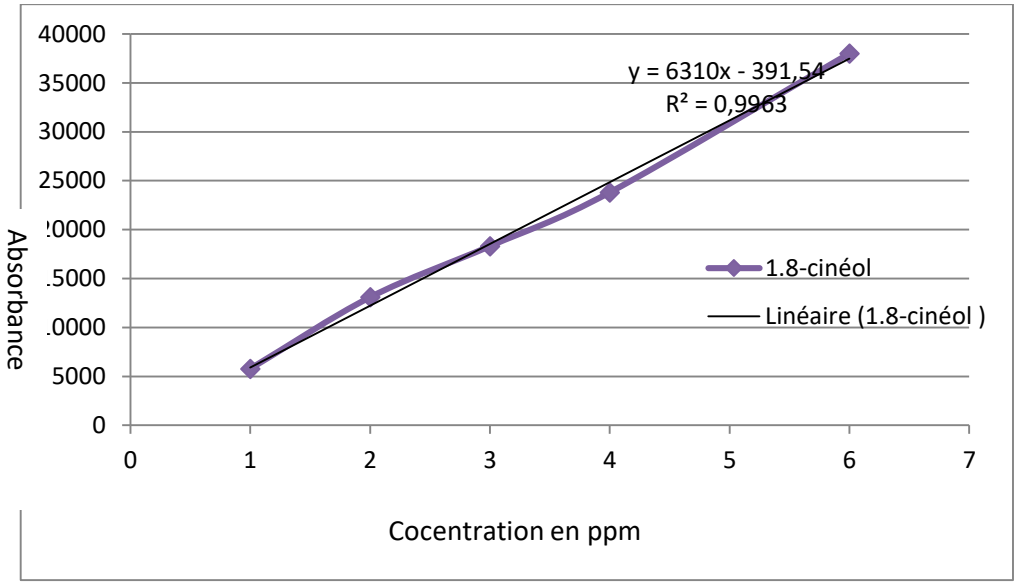


- Le1,8-cinéole

C <C_{crit} (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon du 1,8-cinéole.

C<C_{crit} (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon du 1,8-cinéole.

D'où avec ces points la courbe d'étalonnage peut être tracée.



Courbe d'étalonnage 1.8-cinéole

La courbe d'étalonnage a un coefficient de régression linéaire R² supérieur à 0,99 donc elle donnera des résultats fiables.

- Le limonène :

C <C_{crit} (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon de limonène.

$C<C_{crit}$ (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon de limonène.

D'où avec ces points la courbe d'étalonnage peut être tracée.

Courbe d'étalonnage de Limonène

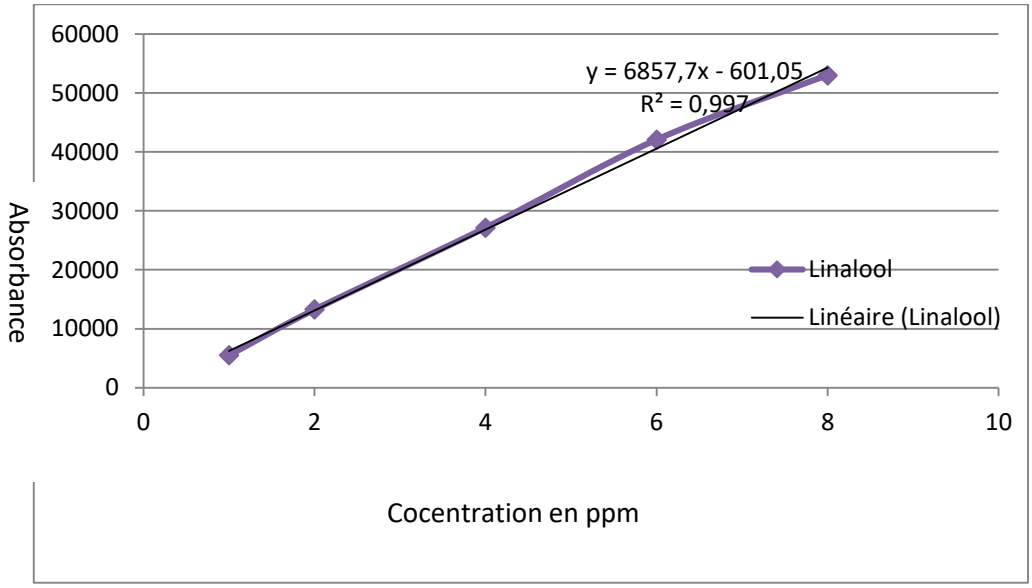
La courbe d'étalonnage a un coefficient de régression linéaire R^2 supérieur à 0,99 donc elle donnera des résultats fiables.

- Le linalol

$C < C_{crit}$ (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon de linalol.

$C<C_{crit}$ (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon de linalol.

D'où avec ces points la courbe d'étalonnage peut être tracée.



Courbe d'étalonnage de linalol

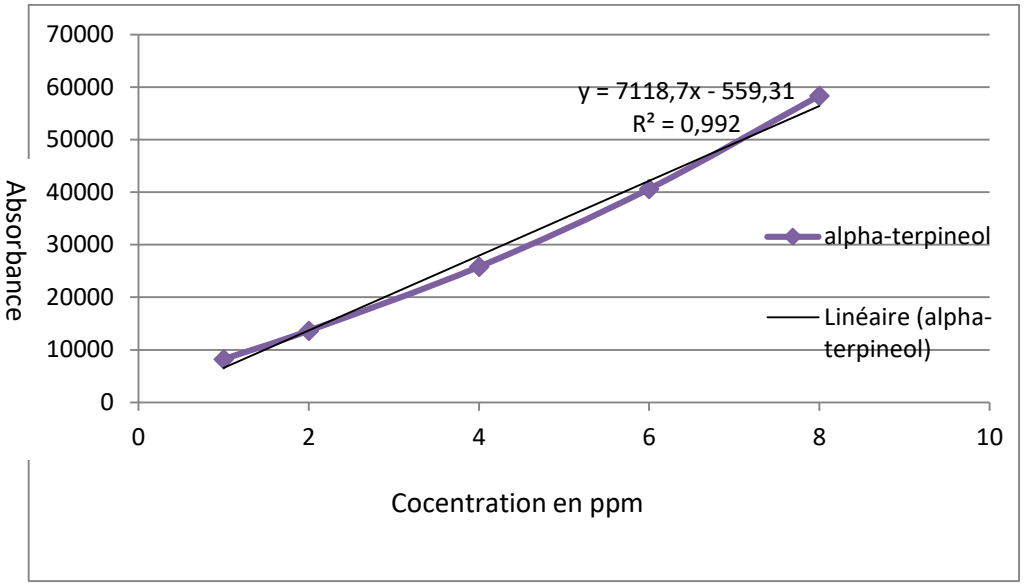
La courbe d'étalonnage a un coefficient de régression linéaire R^2 supérieur à 0.99 donc elle donnera des résultats fiables.

- L'α-terpinéol :

$C < C_{crit}$ (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon d'α-terpinéol.

$C<C_{crit}$ (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon d'α-terpinéol.

D'où avec ces points la courbe d'étalonnage peut être tracée.



Courbe d'étalonnage de α-terpinéol

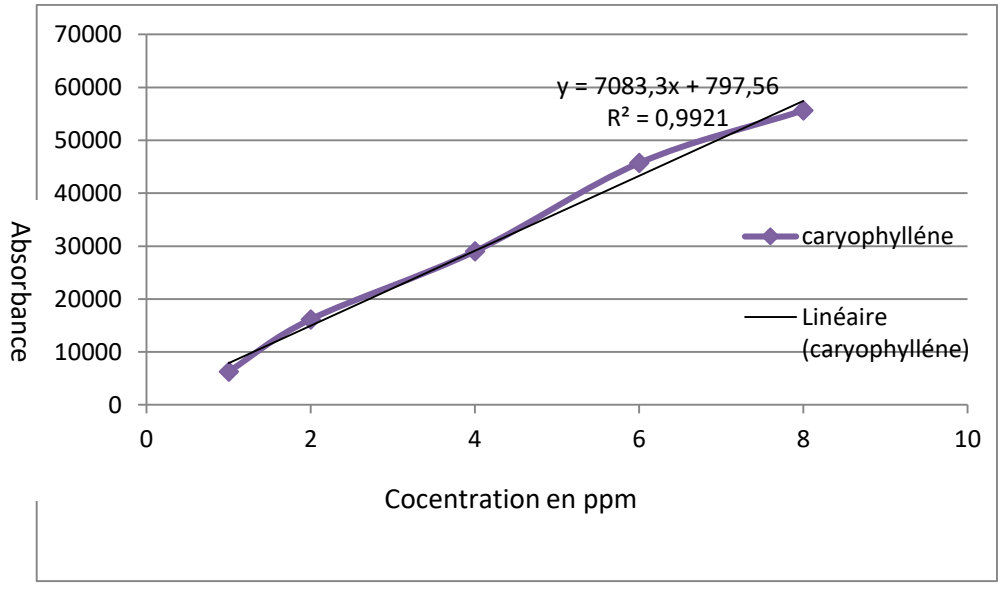
La courbe d'étalonnage a un coefficient de régression linéaire R^2 supérieur à 0.99 donc elle donnera des résultats fiables.

- Le β-caryophyllène :

$C < C_{crit}$ (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon de β-caryophyllène.

$C < C_{crit}$ (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon de β-caryophyllène.

D'où avec ces points la courbe d'étalonnage peut être tracée.



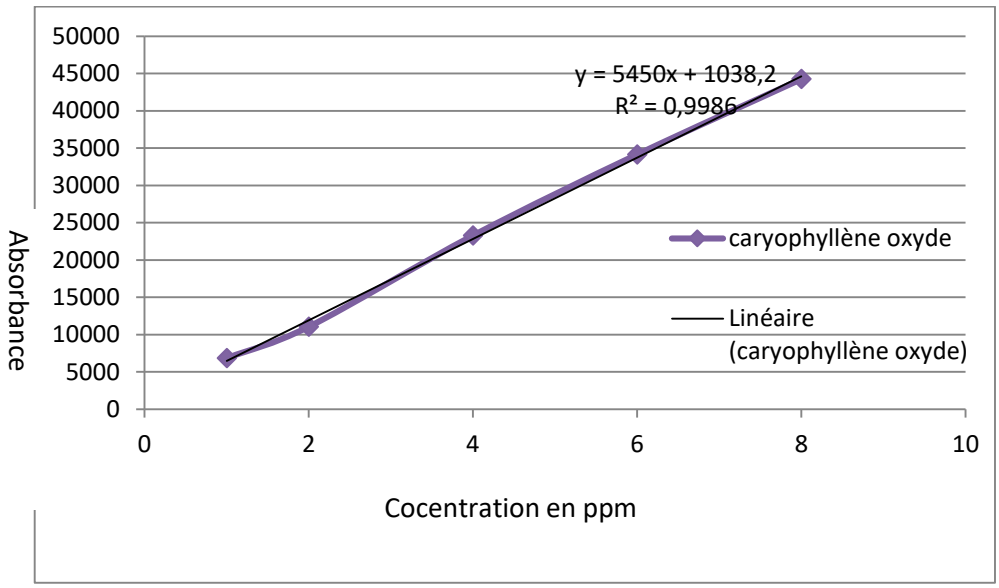
Courbe d'étalonnage β-caryophyllène

La courbe d'étalonnage a un coefficient de régression linéaire R^2 supérieur à 0.99 donc elle donnera des résultats fiables.

- L'oxyde de caryophyllène :

$C < C_{crit}$ (1%) : il n'existe pas des points aberrants dans la gamme étalon d'oxyde de caryophyllène.

$C < C_{crit}$ (5%) : il n'existe pas des points suspects dans la gamme étalon d'oxyde de caryophyllène.



Courbe d'étalonnage de l'oxyde de caryophyllène

La courbe d'étalonnage à un coefficient de régression linéaire R^2 supérieur à 0.99 donc elle donnera des résultats fiables.

ANNEXE 4

Variation de la composition chimique De l'extrait de Pistacia Lentiscus avec CO_2 supercritique en fonction des conditions opératoires

Composes	exp6	exp7	exp8	exp9	exp10	exp11	exp12	exp13	exp14
Tricyclene	0,88± 0,12	0,48± 0,09	0,58± 0.11	0,48± 0.18	1,2± 0,19	0,55± 0,14	1,21± 0,13	0,75± 0,12	0,58± 0,1
α-pinene	**31,21± 1,85**	**34,21± 1,47**	**30,1± 1,75**	**33,21± 1,46**	**32,1± 1,27**	**34,01± 1,57**	**33,15± 1,43**	**34,31± 1,44**	**32,11± 1,58**
Z-3-hexenol	0,22± 0.04	0,32± 0.01	0,22± 0.04	0,23± 0.04	0,11± 0.02	0,33± 0.08	0,53± 0.09	0,86± 0.14	0,62± 0,17
E-2-hexenol	0,05± 0.01	0	0	0	0	0,03± 0.01	0,04± 0.01	0,033± 0.01	0,05± 0.01
Hexanol	0,21± 0.06	0,31± 0.06	0,51± 0.08	0,41± 0.06	0,45± 0.09	0,61± 0.11	0,75± 0.12	0,63± 0.11	0,74± 0.06
E-2-hexenal	0,18± 0.05	0,28± 0.03	0,48± 0.04	0,58± 0.04	0,58± 0.05	0,55± 0.09	0,48± 0.05	0,65± 0.07	0,47± 0.04
α-thujene	0,39± 0.04	0,41± 0.03	0,21± 0.02	0,31± 0.04	0,24± 0.04	0,3± 0.03	0,44± 0.03	0,56± 0.05	0,48± 0.04
Camphor	1,48± 0.18	1,45± 0.11	1,05± 0.14	1,65± 0.16	1,15± 0.08	1,7± 0.13	1,23± 0.09	1,66± 0.14	1,33± 0.15
xxCamphene	0,99± 0.08	1,2± 0.12	1,02± 0.11	1,42± 0.13	1,12± 0.12	1,32± 0.12	1,16± 0.14	1,22± 0.12	1,25± 0.12
Sabinene	0,19± 0.07	0,22± 0.06	0,32± 0.04	0,42± 0.03	0,22± 0.03	0,52± 0.05	0,29± 0.01	0,56± 0.03	0,33± 0.02
β-pinene	2,14± 0.14	2,17± 0.12	2,07± 0.16	2,37± 0.17	2,17± 0.18	2,47± 0.21	2,27± 0.23	2,81± 0.24	2,23± 0.22
Myrcene	0,15± 0.03	0,17± 0.02	0,27± 0.04	0,37± 0.04	0,17± 0.02	0,47± 0.06	0,33± 0.03	0,4± 0.05	0,28± 0.03
α -phellandrène	0,26± 0.03	0,3± 0.04	0,22± 0.03	0,32± 0.04	0,28± 0.04	0,42± 0.05	0,16± 0.03	0,24± 0.03	0,15± 0.02
Δ-3-carene	0,03± 0.0	0	0	0	0	0	0	0	0
p-cymene	2,88± 0.17	3,04± 0.23	3,54± 0.31	2,95± 0.29	3,84± 0.41	2,45± 0.27	3,04± 29	2,6± 0.26	3,21± 0.31
Limonene	1,8± 0.15	2,01± 0.18	2,41± 0.13	2,21± 0.09	2,51± 0.09	2,71± 0.09	1,55± 0.09	2,02± 0.09	1,45± 0.09
1-8-cineole	**4,88± 0,95**	**6,02± 1,12**	**6,62± 1,02**	**5,85± 1,05**	**6,42± 1,08**	**5,95± 1,11**	**6,01± 0,98**	**5,66±0,89**	**6,41± 1,13**
(*E*)-β-Ocimene	0,92± 0.13	0,82± 0.09	0,62± 0.08	0,92± 0.11	0,72± 0.09	0,82± 0.07	0,62± 0.06	0,78± 0.07	0,52± 0.06
γ -terpinene	0,35± 0.03	0,56± 0.06	0,36± 0.04	0,33± 0.04	0,56± 0.07	0,12± 0.01	0,25± 0.04	0,12± 0.01	0,68± 0.09
Oxyde de Cis-linalool	1,6± 0.12	1,79± 0.20	1,49± 0.01	1,09± 0.12	1,44± 0.13	1,69± 0.16	1,47± 0.15	1,72± 0.19	1,48± 0.11
Oxyde de Trans linalool	0,9± 0.12	0,98± 0.13	0,58± 0.06	0,88± 0.09	0,58± 0.07	0,77± 0.08	0,54± 0.06	0,85± 0.09	0,54± 0.06
Terpinolene	0,46± 0.06	0,48± 0.04	0,68± 0.09	0,58± 0.07	0,74± 0.08	0,48± 0.06	0,87± 0.07	0,64± 0.08	0,92± 0.13
Linalool	2,69± 0.28	2,89± 0.25	2,29± 0.22	2,69± 0.25	2,19± 0.24	2,54± 0.29	2,89± 0.3	2,94± 0.3	2,77± 0.28
Borneol	**3,82± 0.68**	**4,62± 0.87**	**4,02± 0.88**	**4,22± 0.75**	**4,12± 0.77**	**2,74± 0.44**	**4,66± 0.48**	**4,45± 0.59**	**4,86± 0.66**
Terpinene-4-ol	**13,98± 0,95**	**13,08± 0,97**	**12,68± 0,88**	**13,02± 0,89**	**12,01± 1,14**	**12,22± 1,12**	**12,32± 1,08**	**12,77± 1,1**	**12,86± 1,07**
α -terpineol	**4,68± 0.77**	**4,58± 0,69**	**4,88± 0,088**	**4,12± 0,66**	**4,21± 0,71**	**4,25± 0,68**	**4,36± 0,59**	**4,06± 0,68**	**4,66± 0,81**
Geraniol	0,59± 0.06	0,79± 0.08	0,99± 0.01	0,59± 0.01	0,59± 0.08	0,89± 0.12	0,41± 0.05	0,69± 0.08	0,31± 0.06
Acetate de bornyle	2,12± 0.65	2,02± 0.63	2,12± 0.55	2,01± 0.54	2,19± 0.67	2,81± 0.61	2,88± 0.71	2,78± 0.55	2,8± 0.53
Tridecane	0,13± 0.03	0,03± 0.01	0,05± 0.01	0,05± 0.01	0,06± 0.01	0,05± 0.01	0,08± 0.01	0,04± 0.01	0,06± 0.01
Linalyl de proprionate	1,65± 0.14	1,95± 0.23	1,85± 0.24	1,55± 0.17	2,01± 0.18	1,44± 0.16	1,99± 0.24	1,84± 0.21	1,87± 0.23
Acetate d'α terpenyle	0,43± 0.04	0,63± 0.07	0,69± 0.05	0,77± 0.09	0,74± 0.08	0,87± 0.08	0,85± 0.09	0,88± 0.09	0,95± 0.12

Annexe 4

Copaene	0,24± 0.02	0,26± 0.02	0,33± 0.04	0,46± 0.05	0,53± 0.06	0,66± 0.07	0,63± 0.07	0,77± 0.08	0,77± 0.08
β elemene	0,76± 0.09	0,86± 0.13	0,66± 0.07	0,85± 0.11	0,67± 0.07	0,75± 0.08	0,69± 0.07	0,66± 0.08	0,71± 0.08
β-caryophyllene	0,83± 0.07	0,93± 0.1	0,9± 0.08	1,2± 0.13	1,1± 0.09	1,3± 0.11	1,51± 0.17	1,43± 0.15	1,41± 0.15
α -humulene	**4,64± 0.01**	**4,22± 0.01**	**4,82± 0.01**	**4,88± 0.01**	**4,03± 0.01**	**4,02± 0.41**	**4,43± 0.39**	**4,12± 0.5**	**4,83± 0.52**
Allo-aromandrene	0,49± 0.06	0,29± 0.03	0,31± 0.04	0,25± 0.03	0,42± 0.05	0,33± 0.04	0,58± 0.07	0,43± 0.05	0,71± 0.08
Delta muurolene	0,31± 0.04	0,21± 0.03	0,31± 0.04	0,21± 0.03	0,61± 0.07	0,14± 0.01	0,25± 0.02	0,24± 0.03	0,61± 0.06
GermacreneD	0,59± 0.07	0,66± 0.07	0,65± 0.07	0,86± 0.09	0,78± 0.09	0,66± 0.07	0,61± 0.07	0,94± 0.12	0,48± 0.05
Nonadecanone	0,52± 0.07	0,72± 0.08	0,77± 0.08	0,62± 0.06	0,84± 0.09	0,92± 0.12	0,74± 0.08	0,91± 0.11	0,75± 0.09

Annexe 4

exp15	exp16	exp17	exp18	exp19	exp20	exp21	exp22	exp23	exp24	exp25
0,98± 0,13	0,44± 0,18	0,66± 0,15	0,64± 0,11	0,46± 0,08	0,14± 0,02	0,45± 0,08	0,24± 0,09	0,65± 0,15	0,84± 0,12	0,85± 0,12
31,41± 1,54	**30,11± 1,61**	**31,41± 1,71**	**31,1± 1,88**	**32,41± 1,95**	**32,1± 1,45**	**36,41± 1,55**	**30,1± 1,09**	**32,41± 1,25**	**31,01± 1,16**	**32,6± 1,06**
0,76± 0,13	0,62± 0,19	0,74± 0,12	0,82± 0,14	0,64± 0,19	0,32± 0.09	0,84± 0,12	0,52± 0,11	1,02± 0,24	0,99± 0,16	1,42± 0,12
0,043± 0.01	0,05± 0.01	0,063± 0.02	0,08± 0.02	0,03± 0.01	0,01± 0.01	0,08± 0.01	0,06± 0.01	0,1± 0.03	0,08± 0.04	0,12± 0.05
0,68± 0.08	0,74± 0.06	0,85± 0.08	0,84± 0.09	0,65± 0.09	0,8± 0.08	0,66± 0.08	0,88± 0.09	0,67± 0.08	0,98± 0.09	0,87± 0.11
0,75± 0.06	0,47± 0.05	0,85± 0.08	0,67± 0.08	0,91± 0.09	0,56± 0.08	1,11± 0.22	0,56± 0.06	1,21± 0.18	0,66± 0.08	1,31± 0.21
0,66± 0.05	0,48± 0.03	0,67± 0.06	0,58± 0.04	0,56± 0.06	0,88± 0.06	0,56± 0.05	1,08± 0.09	0,5± 0.06	1,18± 0.11	0,8± 0.09
1,76± 0.13	1,33± 0.11	1,96± 0.17	1,53± 0.13	2,06± 0.14	1,43± 0.15	2,86± 0.22	1,53± 0.14	2,96± 0.26	1,63± 0.18	2,56± 0.21
1,12± 0.13	1,05± 0.09	1,02± 0.1	1,08± 0.08	1,02± 0.09	0,66± 0.06	0,96± 0.08	1,25± 0.16	2,22± 0.18	1,85± 0.16	2,42± 0.14
0,74± 0.04	0,33± 0.01	0,44± 0.02	0,13± 0.01	0,64± 0.03	0,23± 0.01	0,84± 0.07	0,63± 0.06	1,02± 0.1	0,93± 0.06	0,42± 0.03
2,66± 0.19	1,56± 0.18	2,76± 0.22	2,83± 0.23	2,25± 0.24	2,12± 0.23	2,85± 0.22	2,42± 0.21	2,54± 0.18	2,4± 0.19	3,11± 0.29
0,38± 0.04	0,28± 0.03	0,31± 0.04	0,24± 0.03	0,3± 0.04	0,14± 0.02	0,6± 0.05	0,45± 0.04	0,42± 0.05	0,47± 0.06	0,22± 0.04
0,18± 0.02	0,15± 0.02	0,16± 0.02	0,14± 0.02	0,18± 0.03	0,24± 0.04	0,19± 0.03	0,14± 0.01	0,22± 0.02	0,19± 0.02	0,32± 0.05
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,08± 0.05
2,85± 0.26	3,21± 0.25	2,15± 0.18	3,01± 0.36	2,05± 0.19	3,11± 0.29	2,44± 0.22	3,01± 0.29	2,94± 0.28	3,21± 0.32	2,22± 0.19
2,12± 0.09	1,45± 0.09	2,22± 0.09	1,55± 0.14	2,12± 0.17	1,95± 0.18	2,62± 0.19	2,05± 0.18	2,82± 0.23	2,15± 0.19	2,84± 0.22
5,86± 0,89	**6,41± 1,09**	**4,66± 0,89**	**6,11± 1,06**	**5,06± 1,01**	**7,11± 1,47**	**6,26± 1,13**	**6,99± 1,26**	**5,36± 1,03**	**6,89± 1,24**	**5,03± 0,99**
0,79± 0.08	0,52± 0.04	0,69± 0.07	0,62± 0.08	0,44± 0.05	0,44± 0.05	0,24± 0.02	0,64± 0.07	0,34± 0.03	0,84± 0.07	0,44± 0.05
0,52± 0.04	0,77± 0.08	0,01± 0.0	0,12± 0.01	0,18± 0.02	0,44± 0.04	0,48± 0.04	0,44± 0.03	0,17± 0.02	0,18± 0.02	0.01± 0.00
1,82± 0.16	1,48± 0.14	1,42± 0.12	1,68± 0.17	1,02± 0.1	1,38± 0.12	1,22± 0.14	1,48± 0.13	1,45± 0.18	1,88± 0.19	1,67± 0.21
0,55± 0.06	0,56± 0.07	0,65± 0.07	0,66± 0.08	0,75± 0.08	0,76± 0.07	0,95± 0.15	0,66± 0.08	1,01± 0.15	0,86± 0.09	1,11± 0.14
0,74± 0.09	0,82± 0.09	0,24± 0.03	0,92± 0.14	0,2± 0.03	0,82± 0.09	0,3± 0.04	0,92± 0.13	0,48± 0.06	1,02± 0.14	0,68± 0.09
2,86± 0.3	2,76± 0.01	2,66± 0.28	2,06± 0.24	2,86± 0.31	2,26± 0.25	2,06± 0.23	2,66± 0.27	2,46± 0.28	2,86± 0.26	2,65± 0.28
4,65± 0,67	**4,86± 0.78**	**4,95± 0.66**	**4,16± 0.69**	**4,85± 0.49**	**4,66± 0.48**	**5,22± 0,76**	**5,66± 0.68**	**5,82± 0,64**	**4,3± 0.52**	**4,02± 0.66**
12,97± 0,94	**12,86± 0,97**	**12,7± 0,98**	**12,06± 1,06**	**13,12± 1,15**	**12,16± 1,13**	**13,02± 1,11**	**13± 1,03**	**12,82± 1,07**	**12,33± 1,02**	**12,02± 1,3**
4,98± 0,76	**4,77± 0,73**	**4,88± 0,72**	**4,67± 0,67**	**4,68± 0,88**	**4,55± 0,76**	**4,88± 0,75**	**4,87± 0,67**	**4,33± 0.75**	**4,57± 0.66**	**4,03± 0,65**
0,79± 0.09	0,41± 0.06	0,7± 0.09	0,4± 0.05	0,55± 0.06	0,65± 0.07	0,73± 0.08	0,75± 0.08	0,65± 0.07	0,83± 0.07	0,42± 0.06
2,68± 0.52	2,8± 0.39	2,88± 0.41	2,85± 0.44	2,08± 0.43	2,15± 0.45	2,18± 0.39	2,05± 0.41	2,02± 0.44	2,41± 0.56	2,42± 0.46
0	0,06± 0.01	0	0,06± 0.01	0,03± 0.01	0,05± 0.01	0,02± 0.0	0,04± 0.01	0,08± 0.02	0,04± 0.01	0
1,7± 0.19	1,97± 0.22	1,02± 0.13	1,27± 0.14	1,12± 0.16	1,2± 0.12	1,42± 0.17	1,27± 0.15	1,52± 0.14	1,02± 0.1	1,82± 0.23
0,68± 0.07	0,9± 0.11	0,28± 0.04	0,98± 0.1	0,18± 0.02	0,48± 0.05	0,28± 0.03	0,68± 0.07	0,88± 0.09	0,18± 0.02	0,98± 0.12
0,87± 0.09	0,67± 0.08	0,57± 0.06	0,67± 0.08	0,47± 0.06	0,7± 0.08	0,77± 0.08	0,63± 0.07	0,47± 0.05	0,48± 0.06	0,32± 0.03
0,86± 0.09	0,71± 0.08	0,96± 0.12	0,61± 0.07	0,44± 0.06	0,81± 0.09	0,48± 0.05	0,24± 0.03	0,44± 0.05	0,47± 0.06	0,91± 0.12
1,53± 0.16	1,41± 0.14	1,23± 0.13	1,31± 0.14	1,13± 0.10	1,41± 0.14	1,03± 0.11	1,01± 0.12	1,13± 0.11	1,41± 0.13	1,63± 0.17
4,31± 0,44	**4,63± 0.52**	**4,21± 0.51**	**4,43± 0.43**	**4,01± 0.42**	**4,93± 0.53**	**4,44± 0.51**	**4,22± 0.47**	**4,4± 0.45**	**4,12± 0.44**	**3,12± 0.31**

exp15	exp16	exp17	exp18	exp19	exp20	exp21	exp22	exp23	exp24	exp25
0,85± 0.09	0,78± 0.08	0,8± 0.08	0,71± 0.08	0,12± 0.02	0,91± 0.08	0,22± 0.03	0,41± 0.05	0,31± 0.04	0,51± 0.05	0,41± 0.05
0,64± 0.06	0,66± 0.07	0,54± 0.06	0,51± 0.06	0,41± 0.05	0,15± 0.01	0,43± 0.05	0,63± 0.05	0,41± 0.05	0,23± 0.03	0,22± 0.01
0,44± 0.05	0,41± 0.05	0,64± 0.07	0,31± 0.04	0,44± 0.05	0,39± 0.04	0,24± 0.03	0,33± 0.04	0,28± 0.03	0,36± 0.04	0,38± 0.04
0,81± 0.08	0,75± 0.08	0,8± 0.08	0,55± 0.06	0,77± 0.09	0,65± 0.07	0,7± 0.08	0,75± 0.07	0,8± 0.08	0,95± 0.09	0,74± 0.09
0,03± 0.01	0	0	0,04± 0.01	0	0,05± 0.01	0	0	0	0,01± 0.0	0

Valorisation de quelques plantes médicinales issues de la flore Tunisienne : Extraction par CO_2 supercritique

L'extraction par fluide supercritique en particulier à l'aide du dioxyde carbone, présente plusieurs avantages par rapport aux procédés d'extraction classiques tels que le gain du temps, la sélectivité et l'absence de dégradation des substances extraites. Dans ce contexte, l'extraction des fleurs de Myrte et de *Pisticia* a été étudiée en déterminant leurs conditions optimales pour avoir un bon rendement. Cette étude a montré pour les deux plantes un rendement élevé en travaillant à des pressions importantes à l'ordre de 200 bars, à une basse température de 40°C et pour des particules de petites tailles de l'ordre de 220 µm. L'extrait de Myrte a montré une activité antioxydante meilleure que celle de l'huile essentielle de la même plante avec un IC50 de l'ordre de 30 µg/ml. L'optimisation du pouvoir antioxydant des extraits de *Pistacia* par CO_2 supercritique a montré un comportement différent de celui du rendement et pour des faibles pressions d'extraction (80 bars), l'activité antioxydante est meilleure. A 84 bars, l'étude a montré la possibilité d'obtenir un extrait présentant un rapport qualité prix meilleur pour des installations supercritiques industrielle de grandes tailles. Afin de valoriser nos recherches et de les concrétiser, l'ajout des extraits et des huiles essentielles a des produits agroalimentaires a enrichi et a donné une valeur ajoutée qui peut représenter ure innovation dans le domaine agroalimentaire. Finalement, les résultats expérimentaux de l'extraction par CO_2 supercritique d'extrait de *Pistacia*, ont été modélisés par le biais du modèle de Sovova (1994) et les résultats numériques de simulation obtenus sont en accord avec les travaux expérimentaux réalisés.

Mots clés : Extraction, Optimisation, Plan d'expériences, Sovova, valorisation, Myrte, *Pistacia*

Valorization of some medicinal plants from the Tunisian flora: Extraction with supercritical CO_2

The supercritical fluid extraction, using carbon dioxide, has several advantages over conventional methods of extraction such as the gain of time, selectivity and absence of extracted substances degradation. In this context, the extraction of myrtle flowers and *Pistacia* were studied by determining their optimal conditions for a good performance. This study showed for both plants high efficiency when working at high pressures in the order of 200 bars, at a low temperature of 40 ° C and for small particle sizes of the order of 220µm. The myrtle extract showed a better antioxidant activity than the essential oil of the same plant with an IC50 of about 30 µg / ml. The optimization of antioxidant extracts from *Pistacia* supercritical using CO_2 showed different results from those for performance and we have good antioxidant activity for pressures of about 80 bars. At 84 bars, the study showed that we can have an extract with a better price-quality ratio for industrial supercritical installations of large sizes. The addition of extracts and essential oils to food products was enriching and has given an added value which can represent an innovation in the food industry. Finally, the experimental results for the extraction with supercritical CO_2 of *Pistacia* extract were modeled through Sovova model (1994) for its reliability and the obtained numerical results agree with previous studies in the literature.

Key words: Extraction, Optimization, Experiences plan, Sovova, valorization, Myrtle, *Pistacia*