

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA

FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE
LA TERRE



DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE

Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

MEMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MASTER

Domaine : SNV Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par : *Belkacemi Romaiassa & Kessouri Amel*

Thème

**Optimisation d'une méthode d'extraction des molécules bioactives
des graines de tomate (*Solanum lycopersicum*).**

Soutenu le: 04/07/2024

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Dr Sedkaoui Youcef</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Dr Tighrine Abderrahmane</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promoteur</i>
<i>Dr Chergui Achour</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2023/2024

REMERCIEMENTS

Au nom de Dieu le tout puissant, et le salut sur le prophète Mohamed messenger de Dieu, que la paix soit sur lui.

Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, le courage et la persistance pour accomplir ce modeste travail, Car l'homme propose mais Dieu dispose, seigneur, veuille toujours diriger nos pas.

Nous remercions chaleureusement les Membres du jury pour nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail.

Ce mémoire n'aurait jamais été entrepris ni achevé sans la patiente assistance et les conseils et orientations, les méticuleux contrôles et suivis de notre promoteur, **Docteur TIGHRINE Abderrahmane** Nous lui témoignons ici, de notre gratitude et notre reconnaissance.

Nous remercions aussi, le chef de département de Science biologique, ainsi tous l'équipe de département pour leur aide et collaboration.

A tous les gens et à toutes personnes, qui se reconnaîtrons, pour nous avoir aidés :

Simplement merci.

Dédicace

Merci Allah de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire et la patience d'aller jusqu'au bout du rêve...

*À celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, **ma mère***

*À l'école de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années de mes études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner de l'aide et à me protéger, **mon père**.*

Aucune dédicace, ne saurait exprimer à sa juste valeur le profond amour que je vous porte, Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir, Puisse Dieu, vous procure santé, bonheur et longue vie

À mon adorable sœur Nahed, À mon seul et unique frère Fahed

*À **ma** grand-mère maternelle et ma grand-mère paternelle*

À mes oncles et mes tantes

À ma binôme Amel pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

À tout(es) mes amis(es)

À tous ceux qui m'aiment

*À tous ceux que j'aime, **Je** dédie ce modeste travail.*

Romaïssa

Dédicace

Je dédie ce travail :

*A Mon Cher papa, Monsieur **KESSOURI Salah**, qui a toujours cru en moi et a mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse dans mes études.*

*A Ma Chère mère, **CHATBI Dahbia**, que je ne cesse de remercier pour tout ce qu'elle m'a donné. Elle m'a supporté 9 mois dans son ventre et a fait de moi la femme que je suis aujourd'hui. Que Dieu la récompense pour tous ces bienfaits.*

A mes adorables sœurs : Kahina(Mona), Fairouz, Radia

A mes deux chers frères : Redouane et Sami Kheir Eddine

A mes grands (es) parent, mes oncles, mes tentes et leurs enfants

A ma binôme Romaiïssa pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.

A tous mes amis de la spécialité : Biochimie Appliquée.

A tous ceux que j'aime.

Amel

Sommaire

Listes des abréviations	
Listes des figures	
Listes des tableaux	
Introduction.....	1

Synthèse bibliographiques

Chapitre 1 : Généralité sur la tomate

1. Historique.....	3
2. Généralités sur la tomate.....	3
3. Sous produits de transformation de la tomate.....	6
4. Principaux composés bioactifs de la tomate.....	7
4.1. Les caroténoïdes.....	7
4.2. Composés phénoliques.....	8
4.2.1. Classification.....	8
4.2.1.1. Les non flavonoïdes.....	8
4.2.1.2. Les flavonoïdes.....	10
4.2.2. Propriétés chimiques majeures des polyphénols.....	12
4.2.3. Intérêts des composés phénoliques.....	13
4.2.3.1. Rôle nutritionnel et thérapeutique.....	13
4.2.3.2. Rôle physiologique.....	13
4.2.4. Facteurs influençant la teneur en composés phénolique.....	14

Chapitre 2: Les techniques d'extraction des composés bioactifs

1. Définition de L'extraction.....	15
2. Intérêt de l'extraction	15
3. Méthodes d'extraction des composés bioactifs.....	15
3.1. Méthodes conventionnelles	15
3.1.1. Extraction solide-liquide.....	15
3.1.1.1. Macération.....	16
3.1.1.2. Hydrodistillation.....	16
3.1.1.3. Extraction par Soxhlet.....	17
3.1.2. Extraction liquide-liquide	18
4. Méthodes non conventionnelles	19
4.1. Extraction par micro-ondes	19
4.2. Extraction par CO ₂ supercritique	20
4.3. Extraction par ultrasons	21
4.4. Extraction liquide sous pression	22
4.5. Extraction assisté par enzyme.....	23
4.6. Extraction par champ électrique pulsé.....	24
5. Microextraction.....	25
5.1. Microextraction liquide-liquide.....	25
5.1.1. Microextraction directe par simple goutte.....	25
5.1.2. Microextraction dispersive liquide-liquide	26
6. Technique d'extraction par salting out.....	27
6.1. Principe.....	27
6.3. Choix de sels pour l'extraction par salting-out.....	27
6.4. Les paramètres influençant l'extraction	27
6.5. Les avantages de l'extraction par salting-out	28
6.6. Limites et défis	28

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Matériels et méthodes

1. Matériel végétale	29
2. Réactifs et appareillage	30
3. Détermination de taux de matière sèche.....	30
4. Etude préliminaire	31
4.1. Optimisation de type de solvant d'extraction	31
4.2. Optimisation de volume de solvant d'extraction.....	32
4.3. Optimisation de la quantité de sel.....	32
4.4. Optimisation de volume de HCl	33
4.5. Optimisation de la température d'extraction	34
4.6. Optimisation de temps d'extraction.....	34
4.7. Méthode finale optimisée	35
5. Dosage des composés phénoliques	35
5.1. Dosage des polyphénols totaux	35
5.2. Dosage des flavonoïdes	36
6. Détermination de l'activité antioxydantes.....	37
6.1. L'activité anti radicalaire.....	37
6.2. Pouvoir réducteur ferrique.....	39

Chapitre 4 : Résultats et discussions

1. Etude préliminaire	40
1.1. Détermination de taux de la matière sèche	40
1.2. Optimisation de type de solvant d'extraction	41
1.3. Optimisation de volume de solvant d'extraction.....	41
1.4. Optimisation de Quantité de sulfate d'ammonium.....	43

1.5. Optimisation de volume de HCl	44
1.6. Optimisation de température de l'extraction	45
1.7. Optimisation de temps d'extraction.....	46
2. Activité antioxydante	48
2.1. Test de DPPH	48
2.2. Pouvoir reducteur ferrique.....	48
Conclusion.....	50

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

CPT : Composés phénoliques totaux.

ESF : Extraction fluide supercritiques.

EAU : Extraction assisté par ultrasons.

ELP : Extraction liquide sous pression.

EAE : Extraction assisté par enzyme.

PEF : Extraction par champ électrique pulsé.

SDME : Microextraction direct en goutte simple.

DLLME : Extraction dispersive liquide -liquide.

SALLE : Extraction liquide-liquide par salting out.

DPPH : 2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle.

Listes des figures

Figure 1 : Coupe transversale d'une tomate.....	3
Figure 2 : la part moyenne des continents pour la production de tomates (A) et le résumé de la tendance de la production mondiale de tomates représentée par les 15 principaux producteurs mondiaux (B).....	6
Figure 3 : Structure de noyau phénol.	8
Figure 4 : Exemples des structures chimiques des stilbène.	9
Figure 5 : Exemples des structures chimiques des coumarines.	10
Figure 6 : Squelette de base des flavonoïdes.....	11
Figure 7 : Structure de quelques flavonoïdes.	12
Figure 8 : Structure chimiques de l'ion phenoxyde.	12
Figure 9 : Extraction par micro-ondes.....	20
Figure 10 : Extraction par CO ₂ supercritique.....	21
Figure 11 : Extraction par ultrasons.	22
Figure 12 : Principe de la Microextraction liquide-liquide dispersive (DLLME).	26
Figure 13 : Etapes de préparations de la poudre de graine de tomate pour l'extraction.	29
Figure 14: Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	36
Figure 15: Protocole de dosage des flavonoïdes.....	37
Figure 16 : Réduction du radical DPPH.....	38
Figure 17: Protocole de l'activité anti radicalaire.....	38
Figure 18: Protocole de pouvoir réducteur ferrique.....	39
Figure 19: L'effet de type de solvants sur la teneur en composés phénoliques et les flavonoïdes des extraits de la graine de tomate.....	42
Figure 20 : L'effet de volume de solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les flavonoïdes des extraits de la graine de tomate.....	43
Figure 21 : L'effet de la quantité de sulfate d'ammonium sur la teneur en composés phénoliques et flavonoïde des extraits de la graine de tomate.....	44
Figure 22 : L'effet de pH d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits de la graine de tomate.....	45
Figure 23 : L'effet de la température d'extraction sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques.....	46

Figure 24: L'effet du temps d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits de la graine de tomate.....	47
Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique.....	49

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Classification de la plante de tomate.....	4
Tableau 2 : Compositions nutritionnelle de la tomate.....	5
Tableau 3 : Principaux antioxydants et activités antioxydants dans les fractions de la peau, de la pulpe et des graines de la tomate.....	7
Tableau 4 : Produits chimique et appareils utilisés.....	30
Tableau 5 : Conditions d'extraction utilisés lors de l'étude initiale.....	31

Introduction

Les tomates (*Solanum lycopersicum L.*) sont l'une des activités majeures de l'industrie agroalimentaire grâce à leur contribution à la croissance et à l'adoption du secteur agricole [01]. Actuellement, les composés antioxydants de la tomate suscitent un intérêt croissant, car de nombreuses recherches épidémiologiques ont révélé que la consommation régulière de fruits et légumes, y compris les tomates, peut avoir un impact important sur la prévention des maladies comme le cancer et les maladies cardiovasculaires.

Les tomates représentent la deuxième culture la plus importante au monde, après les pommes de terre, dont 144 pays dans le monde produisent 100 millions de tonnes de fruits frais [01]. Une partie est consommée directement, mais la majorité est transformée industriellement en purées, jus de tomate et sauces. Ce processus de transformation produit une grande quantité de sous-produits inutilisés, comme les pelures, les graines et les feuilles. Ces déchets sont riches en composés bioactifs, ce qui rend leur utilisation diversifiée essentielle en tant qu'additifs alimentaires, ainsi que dans le domaine de la cosmétique et de la pharmacie [01].

Les résidus issus de l'industrie de la tomate présentent un potentiel d'application dans l'industrie alimentaire grâce à leur teneur élevée en composés bioactifs, y compris des antioxydants tels que les composés phénoliques. Ces composés peuvent être facilement isolés à partir du tissu végétal par une méthode d'extraction, mais cette procédure est déterminée de nombreux éléments, tels que la composition chimique des composés, la taille des particules de l'échantillon, le temps d'extraction et la méthode d'extraction utilisée. De plus, chaque matériau végétal possède certaines caractéristiques particulières ont un impact sur l'extraction de ses composés [03].

Cette étude vise à développer et d'améliorer une approche pour extraire les composés bioactifs des graines de tomate en utilisant une technique d'extraction solide-liquide suivie d'une méthode d'extraction par salting-out. Ce processus d'extraction implique l'ajout d'un sel organique ou inorganique dans une solution aqueuse, ce qui induit un phénomène de précipitation (effet salting-out). Cette précipitation entraîne une diminution soudaine des interactions entre les molécules d'eau et l'analyte, accélérant ainsi le processus d'extraction, qui nous permet d'évaluer l'impact de divers facteurs (volume de solvant, quantité de sulfate d'ammonium, le volume de HCl, température et temps) individuellement ou simultanément sur l'extraction des composés phénoliques totaux présente dans les graines de tomate et sur leur potentielle antioxydante.

Introduction

Ce travail se divise en deux grandes parties :

La première partie est constituée d'une synthèse bibliographique comprenant deux chapitres distincts :

- ✓ Dans le premier chapitre, nous avons abordé la généralité sur les tomates.
- ✓ Le chapitre 2 : Les techniques d'extraction des composés bioactifs.

La deuxième partie est soumise à une étude expérimentale, qui implique : la présentation de notre matériel végétal, la détermination de la matière sèche, optimisation des paramètres d'extraction, le dosage des polyphénols totaux et flavonoïdes, ainsi que l'activité antioxydante. Enfin, nous concluons à partir des résultats obtenus lors de notre étude.

Synthèse Bibliographique

Chapitre 1:
Généralités sur la tomate

1 Historique

La tomate est l'un des légumes les plus essentiels à l'échelle mondiale [01]. La tomate (*Solanum Lycopersicum*) est une espèce de plante de la famille des Solanacées et il en existe 3000 variétés. Le mot « tomate » est d'origine espagnol et signifie fruit gonflé. Les tomates peuvent être cultivées aussi bien en intérieur qu'en extérieur.

Les tomates sont originaires des régions du Pérou et de l'Équateur en Amérique du Sud, mais elles ont été domestiquées pour la première fois au Mexique. Les tomates cultivées sont introduites en Europe par les Espagnols en 1523, en Italie en 1544 et en Angleterre en 1597, puis en Amérique du Nord à la fin du XVIIIe siècle [02].

La tomate peut être cultivée dans des zones allant de très sèches à très humides, du littoral à la montagne, et à des altitudes atteignant environ 3 300 mètres. Cette diversité environnementale a conduit à une grande variété de types de tomates [02].

2 Généralités sur la tomate

La tomate est un fruit de nature botanique, est couramment utilisée comme un légume. Elle se compose de trois parties principales : la peau, le gel et les graines. Elle possède un système racinaire profond, une tige solide, des feuilles ovales à poils glandulaires et des fleurs bisexuées.

Le fruit est charnu, allant du vert au rouge à maturité, et contient de nombreuses graines velues. Ces graines contiennent une grande quantité de matières grasses, similaire à celle que l'on trouve dans les graines de soja ou de tournesol [03].

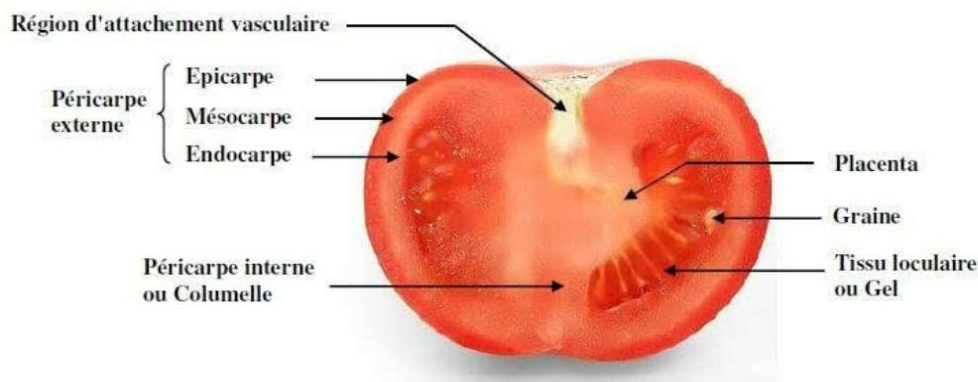


Figure 01 : Coupe transversale d'une tomate [03].

La classification de la tomate est présentée dans le tableau ci-dessous.

Tableau 01: Classification de la plante de tomate [04]

Classement	Nom scientifique	Nom courante
Règne	Vegetal(<i>plantea</i>)	Plantes
Sous – Règne	Tracheophyta	Plantes vasculaires
Super division	Spermatophyta	Plantes à grains
Embranchement	Angiosperms	Plantes à fleurs
Classe	Magnoliopsida	Dicotilydones
Sous classe	Asteridae	Astéridées
Ordre	Solanales	
Famille	Solanaceae	Solanacees
Genre	<i>Solanum</i>	
Espèce	<i>Solanum Lycopersicum</i>	Tomate

La maturité et la qualité des fruits de tomate sont évaluées en fonction de leur couleur, qui change graduellement du vert au rouge pendant leur maturation, en raison de la dégradation de la chlorophylle et de la formation de pigments jaunes et rouges [06]. Selon les données du tableau 2, les tomates sont principalement constituées d'eau, avec des concentrations faibles en protéines et en lipides, mais une forte concentration en glucides [07]. Elles renferment également de nombreux nutriments tels que des vitamines, des minéraux et des antioxydants [08].

La tomate a besoin de température élevée et des conditions particulières afin de favoriser sa croissance optimale, avec une différence entre les tomates comestibles et industrielles en ce qui concerne les techniques de culture et de récolte [09].

Tableau 02 : Compositions nutritionnelle de la tomate [07].

Paramètre (100g)	Composition
Calories (Kcal)	16-23
Humidité (g)	93-95
Protéines (g)	0,98-1,20
Matières grasses (g)	0,14-0,26
Glucides (g)	2,95 - 5,10
Potassium (mg)	204-258
Sodium (mg)	13-42
Calcium (mg)	5-13
Magnésium (mg)	8-12
Fer (mg)	0,47-0,51
Vitamine A (µg équivalents rétinol)	90
Vitamine C (mg)	9-23,4
Vitamine E (mg d'équivalents tocophérols)	0,38
Vitamine B9 (µg)	9-30
Autres vitamines B (mg)	0,5-1

La tomate est un légume très populaire dans le monde entier, avec l'Asie et l'Afrique comme principales régions productrices. La Chine occupe la première place mondiale en termes de production, suivie par les États-Unis, l'Inde et la Turquie [10].

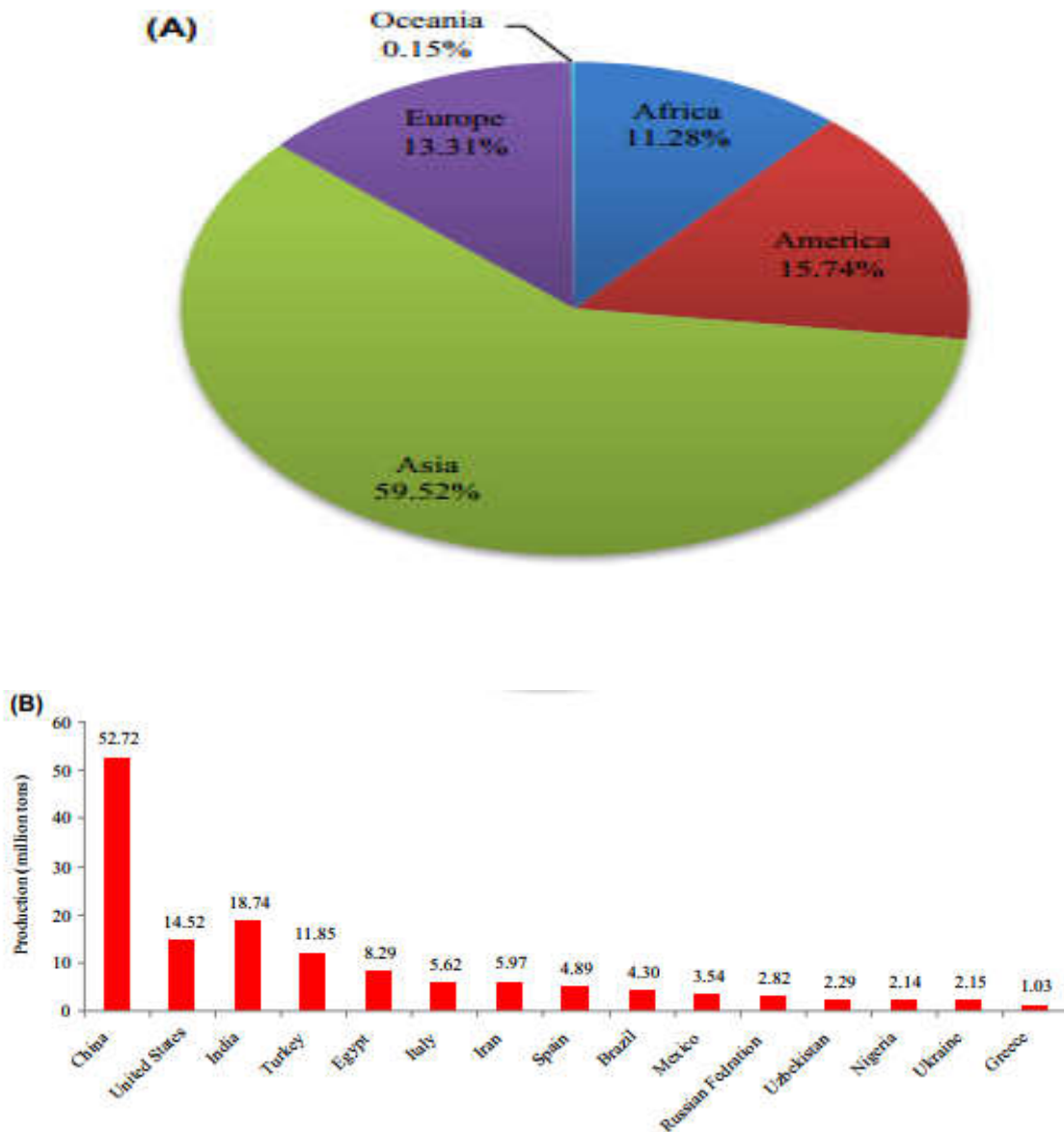


Figure 02 : La part moyenne des continents pour la production de tomates (A) et le résumé de la tendance de la production mondiale de tomates représentée par les 15 principaux producteurs mondiaux (B) [10].

En raison de l'augmentation de la production de tomate ces dernières années, les produits transformés tels que les conserves de tomate, les tomates séchées et les aliments à base de tomates connaissent une popularité croissante [11].

3 Sous produits de la transformation de la tomate

La tomate est constituée d'environ 4 % de sous-produits tels que la peau et les graines. En présence des déchets non utilisés, leur élimination sera un véritable défi, cela provoquera une pollution environnementale plus importante. Ces composants indispensables de la

transformation de la tomate constituent une source très nutritive, contenant des nutriments tels que les caroténoïdes, les fibres, les sucres et les protéines. Les concentrations d'huile sont assez élevées, s'étendant de 18 à 27 % du total [12].

4 Principaux composés bioactifs de la tomate

Les tomates contiennent différentes substances antioxydants comme les caroténoïdes, l'acide ascorbique et des composés phénoliques tels que les flavonoïdes. Surtout, la peau et les graines des tomates contiennent une concentration plus élevée des composés phénoliques, ce qui leur donne un pouvoir antioxydant plus élevé que celui de la pulpe. En outre, la peau de la tomate offre une quantité significative des fibres alimentaires [13].

Tableau 03 : Les principaux antioxydants et leurs activités dans les parties de la peau, de la pulpe et des graines de la tomate [14].

Fraction	Les composés phénoliques (mg GAE/ 100g)		Les flavonoïdes (mg/100g)	Lycopène (mg/100g)	Acide ascorbique (mg/100g)	Activité antioxydant (EAG/100g)	
	Hydrophile	Lipophile				Hydrophile	Lipophile
Peau	29,1	5,6	20,4	8,7	16,9	212,6	18,5
Pulpe	12,7	2,3	8,2	2,8	8,9	81,8	7,0
Graine	22,00	3,5	12,3	1,6	8,4	114,0	9,0

4.1 Caroténoïdes

Les caroténoïdes, considérés comme des pigments naturels de type tétraterpéniques (C40) essentiels pour protéger les plantes contre la photooxydation. Ils fonctionnent comme de puissants antioxydants, neutralisant l'oxygène singulet et les radicaux peroxydes, et contribuent au couleur rouge, orange et jaune des feuilles, des fruits et des fleurs [15].

Les tomates renferment deux catégories de caroténoïdes : Les carotènes sont des molécules non oxygénées telles que le lycopène, le β -carotène et l' α -carotène. Les xanthophylles sont des molécules oxygénées telles que la lutéine, la zéaxanthine et la néoxanthine [16].

4.2 Composés phénoliques

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires qui se trouvent dans les plantes et se distinguent par leurs cycles aromatiques et leurs groupes hydroxyles, qu'ils soient libres ou liés aux glucides [17]. Ils sont courants dans les plantes supérieures [18] et se trouvent dans les racines, tiges, fleurs, graines et feuilles de toutes les plantes [19]. La plupart de ces composés sont solubles dans l'eau et se présentent généralement sous forme de glycosides dans les vacuoles des cellules végétales [20]. D'autres, liposolubles, se situent dans le cytoplasme ou à la surface des plantes, en particulier dans les cires et les exsudats de bourgeons [20].

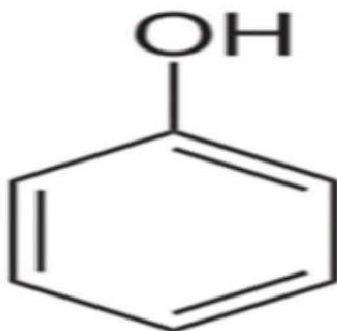


Figure 03 : structure de noyau phénol [17].

De manière nutritionnelle, ces substances sont à la base des composés actifs des plantes médicinales. Il est crucial que les molécules traces soient présentes chez l'homme, car elles ont un impacte direct sur la qualité nutritionnelle des fruits et légumes ainsi que sur la santé des consommateurs (effet antioxydant, protection contre certains cancers, etc.) [21].

4.2.1 Classification

Les polyphénols peuvent être divisés en deux catégories principales : les composés non flavonoïdes et les flavonoïdes [22].

4.2.1.1 Les non flavonoïdes

On retrouve dans cette catégorie les acides phénoliques, les hydroxyles de stilbène, les coumarines, les lignanes, les lignines et les xanthanes.

➤ Les acides phénoliques

Les acides phénoliques sont classés en deux catégories : les acides benzoïques et les acides

cinnamiques. Les acides hydroxybenzoïques sont des substances structurellement complexes, comme les tanins hydrolysables présents dans les mangues et les fruits rouges tels que les fraises, les framboises et les mûres [23]. Les principaux composants sont les acides p-coumariques, caféïques, férulique et sinapiques [24].

Ces acides sont rarement présents à l'état libre, sauf dans les aliments transformés par la congélation, la stérilisation ou la fermentation.

➤ Stilbène hydroxylés

Les stilbène sont peu présents dans l'alimentation humaine. Un de ces composés, le resveratrol, a été identifié lors du dépistage de plantes médicinales pour ses effets anticancéreux.

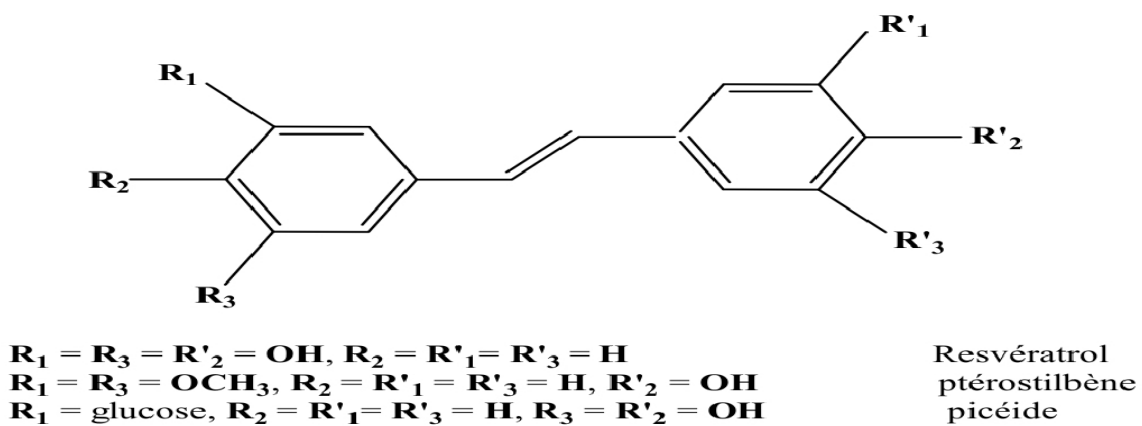


Figure 04 : Exemples des structures chimiques des stilbène [25].

➤ Les comarines

Le mécanisme de lactonisation de l'acide orthocoumarique conduit à la formation des coumarines. Après hydroxylation du noyau aromatique, ces composés sont divers composés phénoliques, typiquement substitués par un groupe hydroxyle en position carbone 7 [26]. Structuralement, ils sont dérivés de la benzo-2-pyrone de base. Plus de 1000 composés coumariniques on en a découvert jusqu'à présent, dont plus de 800 proviennent des plantes et des micro-organismes.

La présence des coumarines permet de préserver les lipides membranaires de la peroxydation et de capturer les radicaux hydroxyles, superoxydes et peroxydes [27].

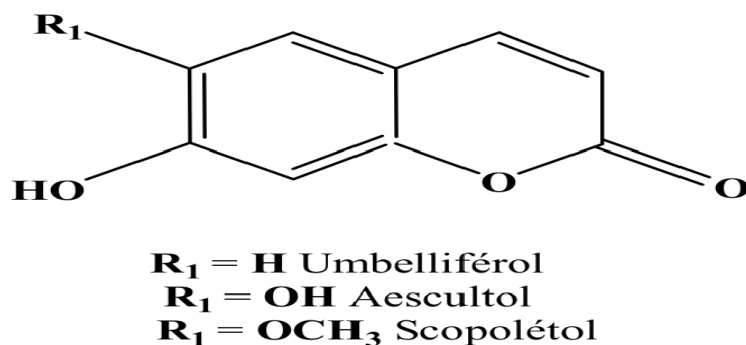


Figure 05 : Exemples des structures chimiques des coumarines [27].

➤ Les lignines et les lignanes

Il existe une grande variété de composés naturels dans le règne végétal, parmi lesquels les lignanes sont significatifs. Les dimères de phénylpropènes ramifiés sont appelés lignanes. Trois alcools sont impliqués dans leur dimérisation: l'alcool p-coumarique, l'alcool coniférique et l'alcool sinapique [28]. Le sécoisolaricirésinol et le matairesinol sont les lignanes végétaux les plus importants.

➤ Les xanthanes

Font partie d'une catégorie de polyphénols que l'on trouve couramment dans les plantes supérieures et les microorganismes. Leur structure de base est caractérisée par un cycle aromatique (C6-C1-C6) [29].

4.2.1.2 Les flavonoïdes

Les flavonoïdes sont des composés à structure phénolique de type benzopyrane, présents uniquement dans les plantes sous forme de glycosides. Les caractéristiques chimiques de ces substances sont influencées par leur composition, leur taux d'hydroxylation, de polymérisation, de substitution et de glycosylation [31]. Toutes ces molécules ont une structure chimique fondamentale qui consiste en un squelette carboné composé de quinze atomes de carbone (A) avec deux cycles aromatiques (B) reliés par une chaîne C3 pour former un hétérocycle (C) [32].

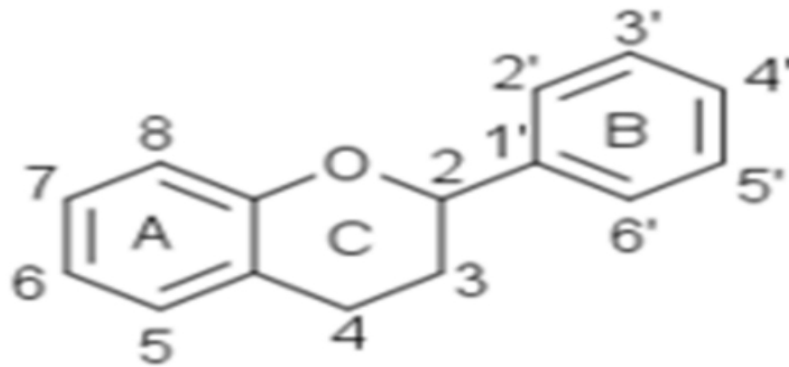


Figure 06 : Squelette de base des flavonoïdes [32].

➤ **Les flavones**

Les structures C6-C3-C6 se distinguent par leur liaison insaturée C2-C3 et leur fonction cétone, telle que l'épigénine et la vitexine (figure 07).

➤ **Les flavanes**

Ce sont des composés saturés qui ne possèdent pas de fonction cétone dans l'hétérocycle central C. On trouve des flavanes dans les écorces des plantes [33]. Ces substances sont appelées monomères ou polymères, comme la catéchine (Figure 07).

➤ **Les flavanones**

Les composés saturés tels que l'hespertine et la fustine présentent un hétérocycle central saturé C (Figure 07).

➤ **Les flavonols**

Selon la Figure 07, les flavones kaempférol, quercétine et rutine ont un groupement hydroxyle (OH) situé en position 3 de l'hétérocycle central C.

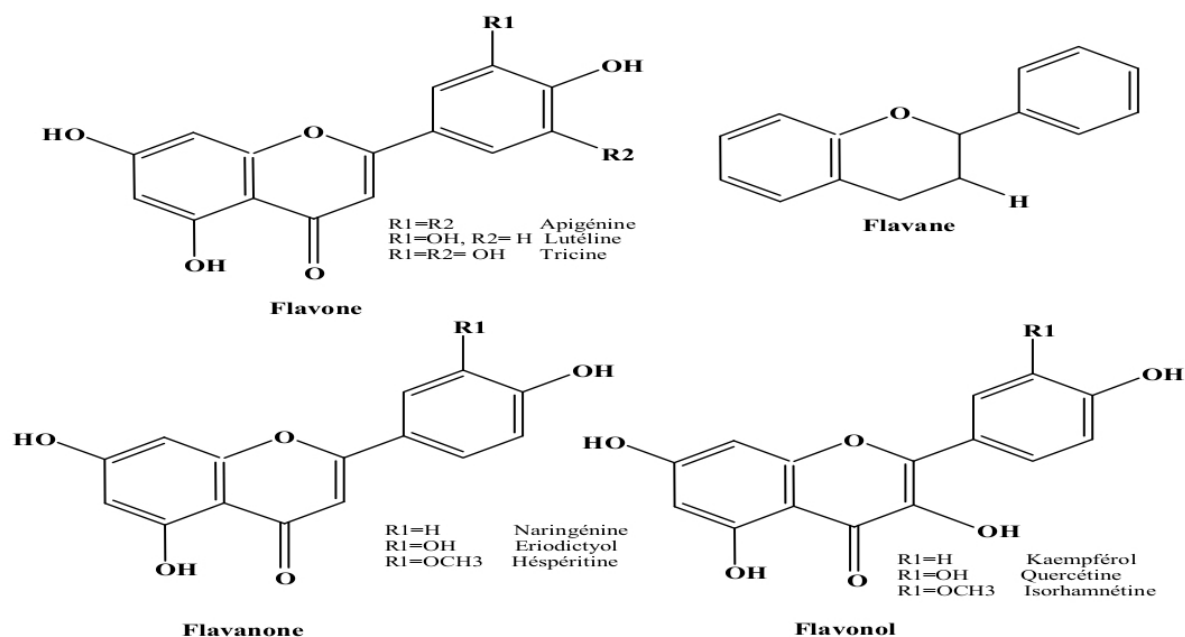


Figure 07 : Structure de quelques flavonoïdes [33].

4.2.2 Propriétés chimiques majeures des polyphénols

Les polyphénols se caractérisent principalement par leurs groupes hydroxyles phénoliques, qui distinguent par leur capacité à libérer facilement des protons acides, ce qui favorise la formation d'anions phenoxyde stabilisés par résonance (Figure 08). Ces anions peuvent perdre un électron pour se transformer en radical. [34], tandis que la récupération de l'électron peut être réalisée par un radical libre. La stabilité résultante du radical phenoxyde, grâce à sa délocalisation, lui confère une réactivité réduite [35], favorisant sa réaction avec d'autres radicaux libre [36].

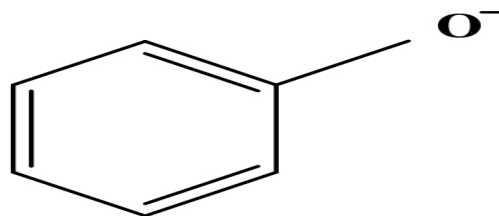


Figure 08 : La structure chimique de l'ion phenoxyde[35].

Les phénols végétaux sont fréquemment modifiés par des méthylation, des conjugaisons avec des esters et des glycosides, ainsi que par des acylations. Dans leur forme naturelle, les polyphénols sont généralement présents sous forme glycosylée [34]. On peut donc expliquer la biodisponibilité relative de certains polyphénols par leur présence naturelle sous forme glycosidique dans les aliments. En effet, des études ont montré que la glycosylation, la conjugaison et la polymérisation tendent à diminuer leur métabolisme intestinal [24].

4.2.3 Intérêts des composés phénoliques

4.2.3.1 Rôle nutritionnel et thérapeutique

Les composés phénoliques présents dans les graines de tomate offrent de nombreux avantages potentiels pour la santé humaine, y compris leur capacité antioxydante, anti-inflammatoire, et leur potentiel à soutenir la santé cardiovasculaire et à réduire le risque de certaines maladies chroniques telles que le cancer et les maladies neurodégénératives, ce qui en fait un ajout bénéfique à une alimentation équilibrée [37].

Les polyphénols, présents en grande quantité dans la nature, sont essentiels pour l'alimentation animale. Par exemple, l'individu ingère jusqu'à 10 g de ces substances quotidiennement, dont ces derniers ont une contribution nutritionnelle et thérapeutique.

L'industrie pharmaceutique intègre les polyphénols afin d'optimiser la valeur nutritionnelle et l'aspect sanitaire des produits alimentaires, certains d'entre eux possédant des propriétés vitaminiques. De plus, ils contribuent à l'amélioration de la digestion. Les décès dus à l'infarctus du myocarde ou à l'athérosclérose coronarienne sont associés à des concentrations élevées de cholestérol LDL (lipoprotéines à faible densité) dans le sang. Selon des recherches, une consommation élevée d'antioxydants phénoliques (vitamine E, quercétine...) est liée à une réduction significative des décès liés à l'athérosclérose, en diminuant l'oxydation des LDL [38].

4.2.3.2 Rôle physiologique

La présence du métabolisme phénolique dans la formation des organes végétaux incite à examiner l'importance de ces substances. Selon des études précédentes, il a été démontré que les phénols jouent un rôle dans plusieurs processus physiologiques, notamment la croissance cellulaire, la différenciation, l'organogenèse, la dormance des bourgeons, la floraison et la tubérisation [39].

Les fleurs doivent leurs couleurs aux pigments qui attirent les pollinisateurs. Ces pigments sont principalement constitués d'anthocyanes, d'aurones et de chalcones. Les anthocyanes, en interaction avec d'autres polyphénols incolores tels que les flavonols et les flavanones, ainsi que les anthocyanes peut avoir un impact sur la couleur des fleurs et des fruits par interpénétration [40].

Les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, sont également très intéressants pour les animaux. Par exemple, la propolis des abeilles contient des substances comme la chrysine, la quercétine et la galantine. L'abeille fabrique cette propolis à partir des sécrétions des bourgeons de différents arbres (bouleau, aulne, épicéa, sapin, saule, orme) et la modifie à l'aide de leurs enzymes salivaires. Les abeilles utilisent la propolis pour désinfecter leur ruche et boucher les fissures en raison des propriétés antifongiques et antibactériennes de ses polyphénols [41].

4.2.4 Facteurs influençant la teneur en composés phénoliques

Plusieurs éléments ont un impact sur la quantité de composant phénolique présent dans les tomates. La composition chimique des tomates est principalement influencée par des facteurs génétiques, environnementaux tels que la lumière, la température, la composition de l'air, la nutrition minérale et le milieu de croissance, ainsi que par des pratiques culturales comme le stade de maturation à la récolte, le système de formation et le système d'irrigation [07].

Chapitre 2 :
Les techniques d'extractions
des composés bioactifs

1 Définition de l'extraction

L'extraction est un processus par lequel des substances naturelles sont obtenues à partir des composés chimiques qui les en contiennent en se basant sur la séparation sélective d'un ou plusieurs composés d'un mélange [42]. Autrement dit, l'extraction implique le transfert de composés d'une phase à une autre [43], soit :

- De la phase liquide à une autre phase liquide ;
- De la phase solide à la phase liquide.

2 Intérêt de l'extraction

L'extraction joue un rôle essentiel dans la préparation des échantillons. C'est un processus de séparation où l'analyte d'intérêt (dans ce cas, un composé phénolique) est réparti entre deux phases non miscibles pour obtenir un coefficient de distribution adéquat [44].

Les extractions sont réalisées de manière séquentielle en utilisant un solvant organique, tout en suivant des conditions analytiques prédéfinies pour la température et le pH sont ajustés pour extraire les composés phénoliques présents dans les échantillons de fruits et légumes [44].

Les échantillons sont essentiellement préparés pour éliminer ou réduire les interférences potentielles de la matrice [44].

3 Méthodes d'extraction des composés bioactifs

Les différentes techniques d'extraction utilisées pour identifier les composés phénoliques présents dans les matières végétales, sont principalement divisées en méthodes conventionnelles et non conventionnelles.

3.1 Méthodes conventionnelles

3.1.1 Extraction solide-liquide

Les méthodes d'extraction solide-liquide constituent le fondement de nombreuses méthodes analytiques utilisées pour préparer les échantillons et sont citées dans les méthodes d'analyse officielles [45].

Le mécanisme de l'extraction solide-liquide est simple : si une matrice solide contenant des composés extractibles est immergée dans un liquide, ce dernier commence à s'enrichir de certaines substances chimiquement liées qui se déplacent de l'intérieur vers la surface du solide, puis de la surface vers la phase liquide [45].

L'extraction solide-liquide est répartie en plusieurs méthodes tels que : la macération, l'hydrodistillation, l'extraction par soxhlet, ect [45].

3.1.1.1 Macération

La macération est la technique la plus couramment employée et la plus courante. Son principe est basé sur le processus de diffusion moléculaire. Pour obtenir des extraits de plantes, les matières végétales (qu'elles soient poudreuses ou grossières) sont immergées dans un solvant pendant deux à trois jours à température ambiante, tout en remuant régulièrement [46]. Ainsi ; Afin d'éviter que le solvant se volatilise à la pression ambiante, on utilise un extracteur qui a pour objectif la libération des phytoconstituants solubles en affaiblissant et en brisant les parois cellulaires de la plante. Le mélange est pressé après un certain temps par filtration ou décantation [46].

Cette méthode présente plusieurs avantages et inconvénients:

❖ Avantages

- un procédé simple qui utilise du matériel simple ;
- une méthode très économique ;
- le contact idéal avec le solvant ne requiert qu'un contact prolongé [46].

❖ Inconvénients

- les substances pharmaceutiques ne peuvent pas entièrement extraites.
- ce processus est très laborieux nécessitant beaucoup de temps [46].

3.1.1.2 Hydrodistillation

C'est une technique classique et efficace couramment employée pour extraire les composants actifs et les huiles essentielles à partir d'échantillons de plantes [47].

De plus, l'hydrodistillation est une méthode qui ne nécessite pas l'utilisation de solvants organiques et qui peut être employée pour les composés thermolabiles [47].

L'hydro distillation se divise en quatre catégories principales :

- Distillation par entraînement à l'eau ;
- Distillation combinée eau-vapeur ;
- Distillation directe à la vapeur ;
- Distillation avec recyclage.

Les différentes modifications dépendent du point d'ébullition de l'huile essentielle et du type de plante médicinale ou aromatique employée [47].

Cette méthode comporte divers avantages et inconvénients :

❖ **Avantage**

- Elle améliore la productivité de l'huile ;
- Elle préserve mieux les éléments volatils de l'huile, ce qui réduit les risques d'hydrolyse et de polymérisation ;
- La distillation à la vapeur et à l'eau permet d'obtenir une huile plus durable ;
- cette méthode est à la fois économique et respectueuse de l'environnement car on n'a pas besoin l'utilisation de solvant organique [46].

❖ **Inconvénients**

- il est impossible d'obtenir une extraction complète ;
- certaines huiles essentielles peuvent se dissoudre sous l'influence prolongée de l'eau chaude [46].

3.1.1.3 Extraction par Soxhlet

Le procédé d'extraction par Soxhlet, utilisé depuis longtemps, est une méthode classique et constitue la principale source d'évaluation des performances d'autres techniques d'extraction solide-liquide [48].

Dans l'approche classique de Soxhlet, l'échantillon est introduit dans une cartouche de cellulose appelé « dé à coudre » qui est progressivement rempli de solvants d'extraction frais et condensé provenant d'un ballon à distiller [48].

Une fois que le liquide est débordé, un siphon est utilisé pour aspirer le liquide de l'échantillon. En faisant circuler les solutés extraits dans le liquide en vrac. La procédure est continuée jusqu'à ce que l'extraction soit terminée [48].

❖ **Avantages**

- il est possible d'utiliser le solvant de façon récurrente ;

- Il est possible de collecter des quantités considérables de matériel végétal en même temps ;
- après l'extraction, cette méthode ne requiert pas de filtration ;
- c'est une procédure extrêmement simple ;
- la répétition de l'interaction d'un nouveau solvant avec la matrice solide permet de modifier l'équilibre de transmission [46].

❖ **Inconvénients**

- en chauffant les échantillons à une température élevée pendant un certain temps, il existe un risque que certains composés soient détruits par la chaleur ;
- l'extraction est laborieuse ;
- uniquement quelques paramètres peuvent être variés manipuler que quelques variables. [46]

3.1.2 Extraction liquide-liquide

Cette méthode d'extraction est connue aussi sous le nom d'extraction par solvant, il est basé sur l'emploi de deux phases liquides non miscibles : une phase aqueuse et une phase organique. La capacité d'extraction dépend de la solubilité des composés à extraire dans la phase organique [49].

Cette méthode présente plusieurs avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

- le cout : ces méthodes ne nécessitent pas d'investissements importants en matériel ou en réactifs ;
- Concentration des échantillons : les solvants organiques permettent de concentrer les échantillons par évaporation ;
- la sélectivité et l'efficacité [50].

❖ **Inconvénients**

- la consommation d'importants de volumes de solvants ;
- les molécules très polaires présentent des difficultés à extraire en raison des caractéristiques chimiques des solvants organiques (apolaire et aprotiques) ;
- il s'agit d'une méthode laborieuse et peu automatisables ;
- problème de formation d'émulsions [50].

4 Méthodes non conventionnelles

4.1 Extraction par micro-ondes

Cette technique est basée sur l'utilisation des micro-ondes qui sont des ondes non ionisantes électromagnétiques et qui se trouvent entre les radiofréquences (à la fréquence la plus basse) et les infrarouges (à la fréquence la plus élevée). Les micro-ondes domestiques et l'extraction assistée par micro-ondes sont généralement utilisées à une fréquence de 2 450 MHz [51].

Il existe deux principaux types d'appareils utilisés dans l'extraction assistée par micro-ondes [51] :

- les fours à micro-ondes multimodes qui utilisent des récipients d'extraction fermés et où l'extraction se fait à une température et à une pression régulée ;
- on utilise la cavité monomode pour les fours à micro-ondes focalisés, car elle produit une fréquence qui ne produit qu'un seul mode de résonance.

La technique de chauffage à micro-ondes exploite l'impact direct des micro-ondes sur les molécules du solide.

Deux mécanismes sont impliqués dans la transformation de l'énergie électromagnétique en énergie calorifique : le transfert d'énergie dans le milieu par rotation dipolaire et le transfert ionique. Plus souvent, ces deux processus se produisent en même temps, ce qui permet en effet de convertir l'énergie des micro-ondes en énergie thermique [52].

Le processus de conduction ionique résulte de la migration électrophorétique des ions lorsqu'un champ électromagnétique est appliqué. Les facteurs qui impactent la conduction ionique sont la résistance de la solution à ce flux d'ions et les collisions entre les molécules.

De plus, le mouvement des ions dissous facilite la pénétration du solvant dans la matrice, favorisant ainsi la solubilisation des composés ciblés [52].

La rotation dipolaire est associée à l'oscillation alternatif des molécules polaires qui présentent des moments dipolaires (soit permanents, soit induits par le champ électrique). Quand le champ est réduit, le déséquilibre thermique est restauré, ce qui entraîne la libération d'énergie thermique.

Cette méthode présente plusieurs avantages et inconvénients :

❖ Avantages

Cette méthode est facile à utiliser, rapide, nécessite moins de solvant et moins d'énergie et empêche la dégradation des composés thermolabiles [53].

❖ Inconvénients

- le prix élevé de l'équipement en comparaison avec d'autres techniques d'extraction.
- la diffusion des CPT est accélérée en utilisant des températures élevées [54].

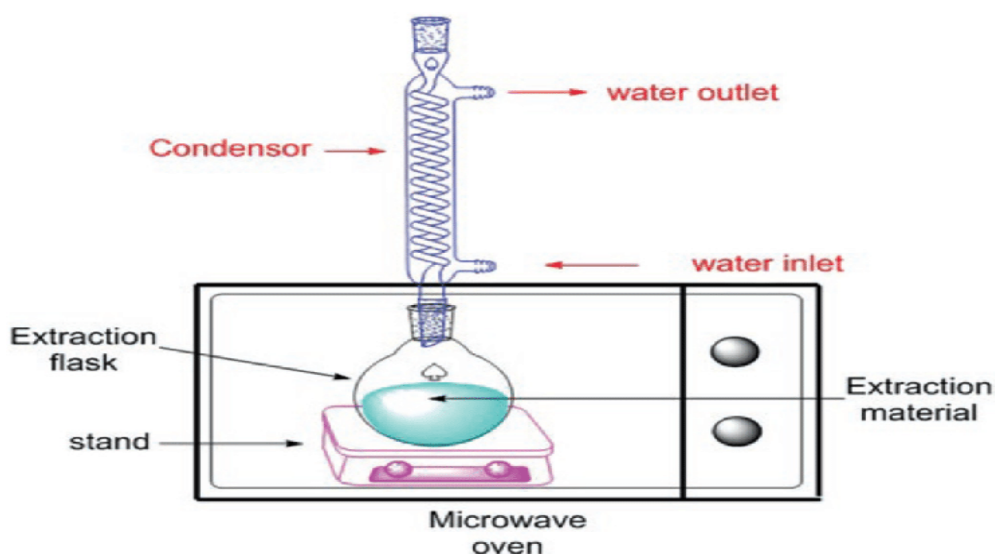


Figure 9 : Extraction par micro-ondes [55].

4.2 Extraction par CO₂ supercritique

L'extraction par CO₂ supercritique utilise des fluides dont la pression et la température sont supérieures au point critique. En raison de sa densité relativement élevée, le fluide supercritique possède un pouvoir de solvation élevé. En modifiant la quantité de solvant et sa sélectivité, ainsi que la solubilité des composés [56].

L'extraction implique de mettre l'échantillon dans un extracteur. Par la suite, le CO₂ est réduit à l'aide d'un bain de refroidissement et remplacé par une pompe à liquide. Après avoir été chauffé à la température désirée dans un bain chauffant et dirigé vers la cuve de l'extracteur, le CO₂ atteint son point supercritique. Il est possible d'utiliser un Co-solvant dans l'extracteur en utilisant une pompe à liquide [56].

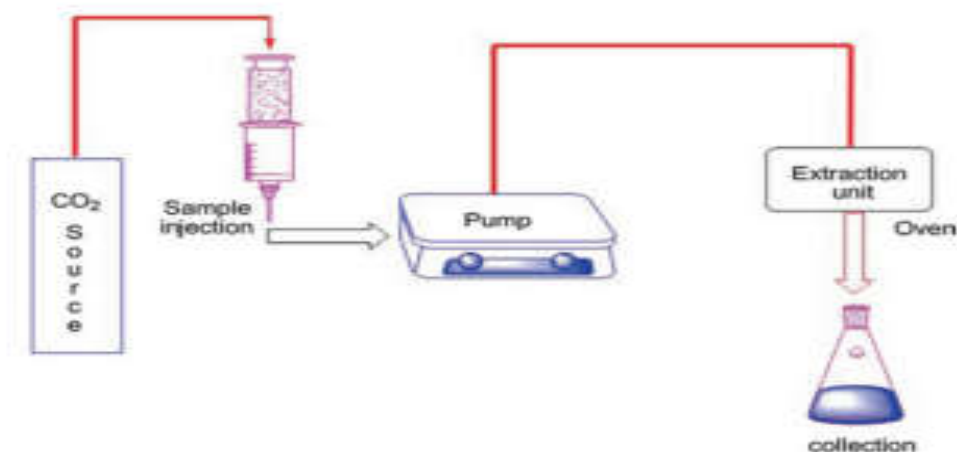


Figure 10 : Extraction par CO₂ supercritique [55].

Cette méthode présente plusieurs avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

Il s'agit d'une méthode simple à automatiser, permettant de réduire à la fois le temps d'extraction et la quantité de solvant, tout en améliorant le rendement et la sélectivité de l'extraction. De plus, elle est bien adaptée pour extraire des composés thermolabiles [58].

❖ **Inconvénient:**

- Le prix de l'équipement est élevé ;
- en limitant l'extraction de plusieurs composés cibles dans les mêmes conditions ;
- il est possible d'extraire un échantillon relativement restreint [58].

4.3 Extraction par ultrasons

L'extraction par ultrasons (EAU) consiste à utiliser des ondes sonores de haute intensité et fréquence. Cette technique pourrait être bénéfique et économique car elle ne nécessite pas d'appareillage complexe et elle peut être adaptée à des utilisations à petite et à grande échelle. Son principe est basé sur les ultrasons qui provoquent la vibration et l'accélération des particules solides et liquides, ce qui permet aux solutés d'intérêt de se déplacer rapidement de la phase solide vers le solvant [57].

De plus, lorsque l'intensité des ultrasons augmente dans un liquide, il atteint un niveau où les forces intramoléculaires ne peuvent plus maintenir la structure moléculaire intacte, ce qui

entraîne sa décomposition et la formation de bulles, ce qui est connu sous le nom de cavitation [57].

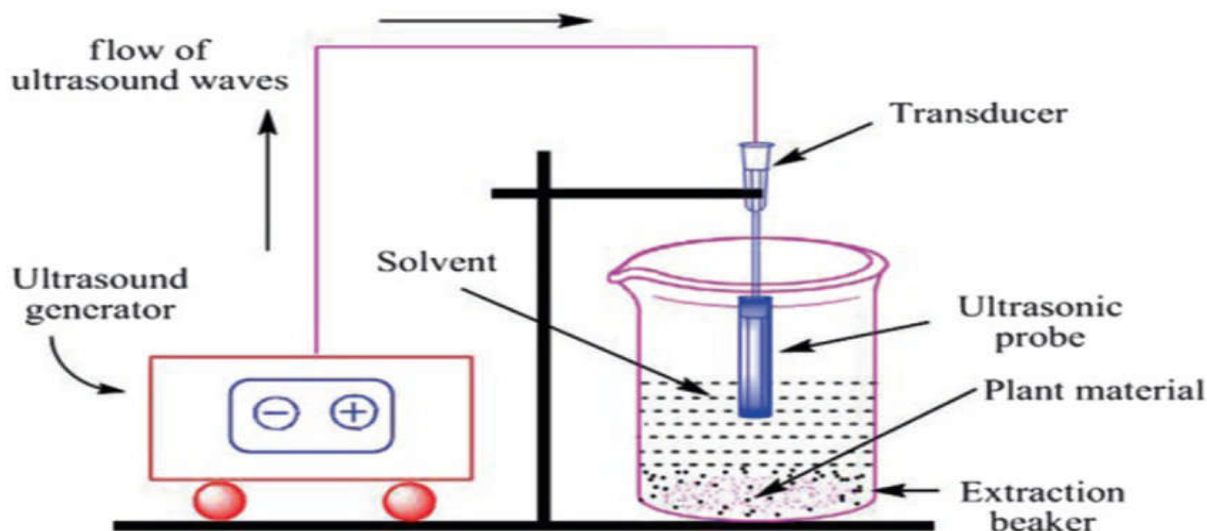


Figure 11 : Extraction par les ultrasons [55].

Cette méthode présente plusieurs avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

- Extraction plus rapide ;
- Utilisation efficace des petites quantités de matériaux ;
- Réduction de la quantité de solvant utilisée [57].

❖ **Inconvénients**

- Risque de dégradation des composés sensibles ;
- Coûts élevés liée à l'équipement ;
- la consommation énergétique [57].

4.4 Extraction liquide sous pression

L'extraction liquide sous pression (ELP) est une technique qui offre la possibilité d'utiliser une faible quantité de solvants tout en maintenant des températures et des pressions élevées. Cela permet une extraction rapide et efficace en améliorant la diffusion, tout en réduisant la viscosité et la tension superficielle du solvant d'extraction [58].

Le système d'instrumentation de l'extraction liquide sous pression (ELP) est principalement constitué d'un réservoir de solvant relié à une pompe à haute pression qui introduit le solvant dans les cellules d'extraction [58].

Dans les cellules d'extraction, l'échantillon, souvent combiné avec des dispersants et/ou des sorbants de nettoyage, il est exposé statiquement au solvant (volume fixe) ou dynamique (flux continu).

Cette approche permet de maintenir la matière première dans la cellule d'extraction, qui est équipée de filtres dans sa partie finale, afin d'éviter de filtrer l'extrait une fois le processus terminé.

Cette méthode présente plusieurs avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

- La température d'extraction peut augmenter afin de favoriser la solubilité des composés cibles ;
- Une augmentation du transfert de masse peut réduire la viscosité, la tension superficielle, le volume de solvant et le temps nécessaire à l'extraction;
- Meilleur rendement d'extraction [58].

❖ **Inconvénients**

- l'instrumentation et l'énergie sont des coûts élevés, ce qui rend la mise en œuvre à l'échelle industrielle difficile ;
- Il est essentiel de prendre en compte la stabilité thermique des composés cibles pour choisir les paramètres optimaux;
- Le conditionnement des cellules nécessite un certain temps;
- Le manque de moyens commerciaux miniaturisés empêche la mise en place d'un trait d'union [58].

4.5 Extraction assisté par enzyme

L'extraction assistée par enzyme (EAE) repose sur la rupture des liaisons hydrophiles et hydrophobes entre les composés phénoliques et la paroi cellulaire par l'ajout d'enzymes. Les tissus végétaux contiennent certains composés phytochimique, qu'ils soient distribués de manière homogène dans le cytoplasme ou qu'ils soient retenus sous forme de polysaccharides et de lignines par des liaisons hydrogènes [59].

Ainsi, ces composés ne peuvent pas être extraits à l'aide des méthodes classiques. Il est reconnu que l'extraction assistée par enzyme (EAE) est un mécanisme efficace qui permet de dissoudre les parois cellulaires et les membranes des matériaux végétaux, ce qui favorise une libération et une extraction plus efficaces des composés actifs [59].

Cette méthode présente des avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

- extraction rapide ;
- le rendement est optimal ;
- il n'y a pas besoin de solvants et la consommation d'énergie est faible par rapport aux méthodes non enzymatiques ;
- les composés bioactifs présents dans le cytoplasme de la cellule sont maintenus intacts et se trouvent fréquemment dans les polysaccharides et les lignages [59].

❖ **Inconvénients**

- L'utilisation d'enzymes pour traiter des grandes quantités de matières premières entraîne une augmentation des dépenses ;
- les enzymes disponibles ne sont pas en mesure de détruire entièrement la paroi cellulaire, ce qui restreint l'extraction par solvant ; [59]
- les conditions du laboratoire sont complexes à mettre en œuvre à l'échelle industrielle.

4.6 Extraction par champ électrique pulsé

L'extraction par champ électrique pulsé (PEF) est une méthode d'extraction rapide et avancée pour l'extraction des composés intracellulaires des matrices végétales [60].

Le principe fondamental de l'extraction assistée par champ électrique pulsé (PEF) repose sur l'électroporation causée par la rupture diélectrique de la membrane cellulaire. En présence d'un champ électrique externe, le potentiel transmembranaire augmente en raison de l'accumulation de charges libres de polarités opposées à travers la membrane [61].

La perméabilisation peut être réversible ou irréversible selon l'intensité du champ, la durée de l'impulsion et le nombre des pores transmembranaires. Lorsque les pores sont plus petits que la surface totale de la membrane, la rupture est réversible.

Cependant, la détérioration réversible devient irréversible lorsque la taille et le nombre de pores augmentent en raison d'une durée d'exposition plus longue au-dessus des champs critiques [61].

Cette méthode de prétraitement par champ électrique pulsé est connue pour optimiser le pressage, le séchage, le temps d'extraction et la diffusion, sans nécessiter une énergie considérable et température élevée. C'est une approche innovante et écologique qui permet

d'isoler les composés phytochimiques des différentes parties des plantes, y compris les feuilles, les racines et les fruits [60].

Cette approche comporte divers avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

Faciliter la production d'échantillons ; diminuer le temps de collecte ; et réduire la dégradation des composés thermolabiles [58].

❖ **Inconvénients**

- L'instrumentation est coûteuse;
- Aucune méthode normalisée n'est disponible pour les conditions de traitement [58].

5 Méthodes de Microextraction

5.1 Microextraction liquide-liquide

5.1.1 Microextraction direct par simple goutte

Le processus de microextraction directe par simple goutte consiste à exposer une goutte de phase organique (de 1 à 10 μ l) de solvant d'extraction, placée à la pointe d'une micro-seringue [62].

Cette méthode d'extraction présente divers avantages et inconvénients :

❖ **Avantages**

- Microextraction direct par simple goutte est une méthode facile, abordable et rapide.
- utilisation des quantités minimales de solvants pour préparer des échantillons, qui repose sur une réduction significative du rapport entre la phase de l'extracteur et le volume de l'échantillon [62].

❖ **Inconvénients**

- la goutte peut être instable à des vitesses d'agitation ou à des températures élevées, surtout lorsque les échantillons ne sont pas parfaitement propres.
- en raison de leur taux élevé de dissolution ou d'évaporation, les solvants dont la solubilité dans l'eau est élevée et dont le point d'ébullition est bas ne sont pas adaptés au direct-sdme.
- la présence d'importantes espèces non polaires qui peuvent entraîner une saturation de la phase organique [62].

5.1.2 Extraction dispersive liquide-liquide

L'extraction dispersive liquide-liquide (DLLME) est une technique fréquemment utilisée pour extraire divers composés, y compris les composés phénoliques, à partir de différents échantillons [63].

Le processus d'extraction se divise en deux étapes :

- un mélange de solvants d'extraction et de dispersion est injecté rapidement dans un échantillon liquide. La formation d'une dispersion permet une extraction rapide des analytes de l'échantillon [63] ;
- Ensuite, on élimine la dispersion en centrifugeant et on récupère le solvant d'extraction contenant les analytes à l'aide d'une seringue.

L'extraction dispersive liquide-liquide est présente deux avantages majeurs : Le solvant d'extraction ne nécessite pas une densité plus élevée que celle de l'eau, car l'extraction se déroule dans un flux en mouvement et la séparation de la phase organique n'est pas effectuée par centrifugation. Mais en ce qui concerne la rétention. Et le processus est complètement automatisé [64].

Les problèmes les plus importants pourraient être : La séparation des phases, qui se fait généralement en dehors de la ligne et qui est le processus le plus long, et dans le transfert de la phase organique collectée dans l'appareil de mesure [64].

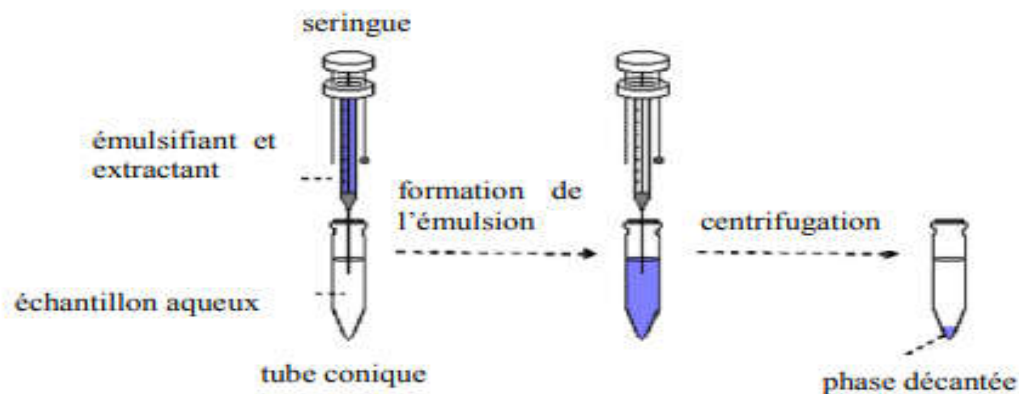


Figure 12: Principe de la microextraction liquide-liquide dispersive (DLLME) [65].

6 Technique d'extraction par salting out

6.1 Principe

L'extraction par salting-out est une technique qui implique l'incorporation d'un sel organique ou inorganique dans une solution aqueuse (effet salting-out), ce qui entraîne un affaiblissement brutal des forces de solvation entre les molécules d'eau et l'analyte, ce qui augmente le coefficient de partage de l'analyte dans la solution organique pendant l'extraction [66].

On peut définir l'effet de salting-out comme un phénomène où la concentration en sel d'une solution aqueuse augmente considérablement, tandis que la solubilité des solutés à extraire diminue [67].

Afin d'évaluer l'impact potentiel du relargage d'un sel, il est essentiel de prendre en considération trois facteurs essentiels [67] :

- il est important de minimiser la solubilité du sel dans le solvant miscible à l'eau ;
- il est essentiel que la solubilité dans l'eau soit élevée pour favoriser une interaction optimale avec l'eau ;
- il est nécessaire que la précipitation des substances hydrophiles soit puissante.

6.2 Choix de sels pour l'extraction par salting-Out

Plusieurs sels organique et inorganique peuvent être appliqués pour l'effet salting out, parmi ces derniers on a [67] :

- Le chlorure de sodium est souvent utilisé pour le relargage.
- La présence du sulfate d'ammonium permet une précipitation efficace des composés phénoliques.
- Le sel, en tant que phosphate de potassium, favorise une meilleure régulation du pH de l'environnement.
- sulfate de magnésium : sel écologique moins cher pour le relargage.

6.3 Les paramètres influençant l'extraction

- ✓ **La nature de solvant** : Il est crucial de sélectionner un solvant d'extraction adéquat pour le processus de microextraction. Un solvant organique adéquat doit satisfaire aux

critères suivants : le solvant organique peut être dissous dans l'eau en raison de sa solubilité modérée dans l'eau.

Ensuite, une fois que le sel a été ajouté, la quantité d'isolation est proche de la quantité ajoutée. Il est important d'avoir une solubilité et une sélectivité élevées pour faciliter l'extraction des analytes [68].

- ✓ **Volume de solvant** : Le volume de solvant d'extraction est déterminé par sa capacité à se séparer de la phase aqueuse après l'extraction, ainsi que par la reproductibilité et l'efficacité de l'extraction [69].
- ✓ **La concentration de sel** : L'incorporation de sels dans l'eau a généralement pour effet d'améliorer l'efficacité de l'extraction. Ce comportement est dû à la diminution de la quantité d'« eau libre » dans le milieu aqueux. Cela conduit à une augmentation de la concentration en composés phénoliques [70].
- ✓ **pH** : le pH de la solution est essentiel car il impacte la solubilité des analytes [71].
- ✓ **Température et le temps** : La température et la durée d'extraction jouent un rôle crucial dans l'efficacité du processus. L'effet de la température est relativement peu utilisé, en raison de son accroissement, les taux de transfert de masse entre les différentes phases sont améliorés. Le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est souvent long et peut être réduite par une agitation intensive [72].

6.4 Les avantages de l'extraction par salting-out

La méthode d'extraction par salting-out présente plusieurs avantages [67] :

- une consommation très faible de solvant ;
- la possibilité d'automatisation ;
- simplicité : le processus de relargage est relativement simple à mettre en œuvre ;
- efficacité : cette méthode récupère bien les composés phénoliques ;
- faible coût : les réactifs utilisés sont généralement bon marché.

6.5 Limites et défis

Par ailleurs, cette méthode présente quelques inconvénients [66] qui sont :

- sélectivité : le relargage peut coprecipiter d'autres composés indésirables ;
- récupération : la récupération des composés précipités peut être laborieuse ;
- optimisation : les paramètres d'extraction doivent être finement optimisés ;
- purification : des étapes de purification supplémentaires soient requises.

Partie expérimentale

Chapitre 3 :
Matériels et méthodes

1 Matériel végétal

Dans un premier temps, une quantité de tomate a été achetée, puis les graines ont été récupérés, lavées puis séchées à l'air libre à l'abri de soleil à une température ambiante. Ensuite, l'échantillon a été placé dans une étuve à une température de 40°C et pesé chaque 30 minute jusqu'à le poids soit constant avec une humidité inférieure à 7%.

Une fois séché, les graines ont été écrasées à l'aide d'un broyeur électrique. La poudre a été tamisée et gardée dans un flacon en verre fermé et conservé dans l'obscurité jusqu'au moment de l'extraction.



(A) Les graines de la tomate



(B) Broyage



(C) Tamisage



(D) Poudre

Figure 13 : Procédure de préparation de la poudre de graines de tomate pour l'extraction.

(Originale, 2024)

2 Réactifs et appareillages

Les substances chimiques et les équipements utilisés dans le cadre de cette étude sont présentés dans le tableau 4.

Tableau 04 : produits chimiques et appareils utilisés.

Produits	Appareils
Ethanol Absolue 99%, méthanol 99%, acétone 99,5%, l'eau distillée.	Balance analytique (Pioneer Ohaus)
Sulfate d'ammonium, carbonate de sodium	Plaque agitatrice (Hotplate Stirrer, VELP Scientifica)
Chlorure d'aluminium (AlCl ₃) 98%	Broyeur électrique (High Star Y46 AC220V/50HZ 350W)
acide gallique, quercétine	Bain marie (Nuve Bath)
Réactif de folin-ciocalteu	Vortex (VELP SCIENTIFICA)
2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH).	Centrifugeuse non réfrigérer (Sigma)
HCl pure, Tampon phosphate à pH 6,6	Spectrophotométrie (Optima SP-3000 nano)
Ferricyanure de potassium (K ₃ Fe (CN))	Hôte
Chlorure ferrique (FeCl ₃)	Etuve (Venticell)
Acide trichloracétique (TCA)	
Acide ascorbique	

3 Détermination de la matière sèche

Le taux d'humidité est correspond a la proportion d'eau qui présente dans un échantillon, exprimée en pourcentage par rapport a la totale de l'échantillon. Et calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Le taux d'humidité} = \frac{M_1 - M_2}{M_1} * 100$$

M1 : masse en g de la poudre avant le séchage.

M2 : masse en g de la poudre après le séchage.

On calcule le taux de matière sèche en se basant sur la teneur en eau, qui correspond à la proportion de matière qui ne contient pas d'eau dans un échantillon, en utilisant la formule suivante :

$$\text{Taux de matière sèche (\%)} = \frac{M_2}{M_1} * 100$$

4 Etude préliminaire

L'extraction est une technique importante pour la découverte et l'analyse des composés phénoliques. Il est crucial de sélectionner une méthode et des paramètres d'extraction adéquats afin de maximiser le rendement d'extraction, la pureté et l'efficacité du processus.

Avant de commencer l'optimisation, une étude préliminaire a été réalisée pour sélectionner les paramètres à améliorer et déterminer les niveaux de ces paramètres en utilisant des méthodes d'extraction solide liquide et liquide-liquide combinées avec la méthode de salting-Out.

Cette étude est influencée par différents paramètres d'extraction comprenant le type de solvant, le volume utilisé, la quantité de sels, le volume de HCl, la température et le temps d'extraction. Chaque paramètre est optimisé par la méthode pas à pas afin d'obtenir un rendement d'extraction maximal des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

La méthode pas à pas consiste à varier les niveaux d'un seul paramètre et de fixer les autres arbitrairement, ensuite à chaque fois un paramètre est optimisé, son niveau optimal est utilisé pour l'optimisation de prochain paramètre.

La première partie de ce travail a été consacrée à l'optimisation des conditions d'extraction qui sont présentées dans le tableau 5.

Tableau 05 : Conditions d'extraction utilisées lors de la première étude.

Types de solvant	Volume de solvant	Quantité de sels	Volume de HCl	Température (°C)	Temps d'extraction
Acétone	2ml	1,3g	85µl d'HCl	Température ambiante	90min
Méthanol	3ml	1,5g	170µl d'HCl	40°C	180min
Ethanol	4ml	1,7g	340µl d'HCl	60°C	270min
	5ml	1,9g		80°C	360min

4.1 Optimisation de solvant d'extraction

Dans cette première partie, trois solvants (éthanol, acétone et méthanol) ont été choisis. Les extraits sont ainsi préparés :

- ✓ Dans le tube 01, on a mélangé 0,3 g de poudre avec 3 ml d'éthanol pur.

- ✓ Dans le tube 02, on a mélangé 0,3 g de poudre avec 3 ml de méthanol pur.
- ✓ Dans le tube 03, on a mélangé 0,3 g de poudre avec 3 ml d'acétone pur.

Après une incubation de 90 minutes, 3 ml d'eau distillée contenant 1,5 g de sulfate d'ammonium sont ajoutés dans chaque tube.

Puis, mélanger au vortex 5 minutes et une centrifugation 5 minutes à 4000 tours/min.

Ensuite, les surnageants obtenus ont été récupérés pour le dosage des polyphénols et de flavonoïdes.

4.2 Optimisation de volume de solvants d'extraction

Quatre extractions ont été effectuées avec des volumes de solvant différents :

- **Extraction 1** : consiste à mélanger 0,3g de poudre de la graine de tomate avec 2ml d'éthanol pur.
- **Extraction 2** : consiste à mélanger 0,3g d'échantillon avec 3ml d'éthanol pur.
- **Extraction 3** : consiste à mélanger 0,3g d'échantillon avec 4ml d'éthanol pur.
- **Extraction 4** : consiste à mélanger 0,3g d'échantillon avec 5ml d'éthanol pur.

Après une incubation de 90 minutes, on ajoute dans chaque extraction 3ml d'eau distillée contenant 1,5g de sulfate d'ammonium, suivi d'un vortex 5min et une centrifugation à 4000 tours/ min pendant 5min.

Ensuite les surnageants obtenus ont été récupérés pour évaluer les concentrations totales des polyphénols et des flavonoïdes.

4.3 Optimisation de quantité de sel

Dans cette partie, quatre extractions ont été effectuées suivant différentes quantités de sulfate d'ammonium (1,3 g ; 1,5 g ; 1,7 g et 1,9 g).

- **Extraction 1** : consiste à mélanger 0,3 g de poudre de graine de la tomate avec 2 ml d'éthanol pur. Après 90 minutes d'incubation, on ajoute 3 ml d'eau distillée avec 1,3 g de sulfate d'ammonium. Par la suite, le mélange est mélangé au vortex pendant 5min et centrifugé à 4 000 tours/min pendant 5min.
- **Extraction 2** : consiste à mélanger 0,3g de poudre de graine de la tomate avec 2ml d'éthanol pur. Après 90 minutes d'incubation, on ajoute 3 ml d'eau distillée avec 1,5 g

de sulfate d'ammonium. Par la suite, le mélange est mélangé au vortex pendant 5min et centrifugé à 4 000 tours/min pendant 5min.

- **Extraction 3** : consiste a mélangé une quantité de 0,3g de poudre de graine de tomate avec 2ml d'éthanol pur. Après 90 minutes d'incubation, on ajoute 3 ml d'eau distillée avec 1,7 g de sulfate d'ammonium. Par la suite, le mélange est mélangé au vortex pendant 5min et centrifugé à 4000 tours/min pendant 5min.
- **Extraction 4** : consiste à mélangé 0,3 g de poudre de graine de tomate avec 2 ml d'éthanol pur. Après 90 minutes d'incubation, on ajoute 3 ml d'eau distillée avec 1,9 g de sulfate d'ammonium. Par la suite, le mélange est mélangé au vortex pendant 5min et centrifugé à 4000 tours/min pendant 5min.

Par la suite, les surnageant obtenus ont été récupérer pour le dosage des polyphénols et de flavonoïdes.

4.4 Optimisation de volume de HCl

Quatre extractions ont été réalisées en utilisant différents volumes de HCl.

- **Extraction 1** : consiste à combiner 2 ml d'éthanol pur avec 0,3g de poudre de graine de tomate. Après une incubation pendant 90 minutes, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium. Ensuite on vortex le mélange 5 min et centrifugation a 4 000 tours/min pendant 5 min.
- **Extraction 2** : consiste à combiner 2 ml d'éthanol pur avec 85 μ L de HCl et 0,3g de poudre de graine de la tomate. Après 90 minutes d'incubation, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium. Puis mélanger au vortex pendant 5 minutes et centrifuger à 4 000 tours par minute pendant 5 minutes.
- **Extraction 03** : consiste à combiner 2 ml d'éthanol pur contenant 170 μ L de HCl avec 0,3g de poudre de la graine de tomate. Après une incubation de 90 min, on ajoute 3 ml de l'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium. Puis mélanger au vortex pendant 5min et centrifuger à 4 000 tours par minute pendant 5 minutes.
- **Extraction 04** : consiste à combiner 2 ml d'éthanol pur contenant 340 μ L de HCl avec 0,3g de poudre de graine de tomate. Après une incubation pendant 90minutes, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium. Puis mélanger au vortex pendant 5min et centrifuger à 4 000 tours par minute pendant 5 minutes.

Après cela, on a récupéré les surnageant pour le dosage des polyphénols totaux et de flavonoïdes.

4.5 Optimisation de la température d'extraction

Dans cette partie. On a réalisé quatre extractions à des températures différentes :

- **L'extraction 1 :** consiste à mélanger 0,3 g de la poudre avec 2 ml d'éthanol contenant 85 µl d'HCl. Après une incubation de 90 min à température ambiante, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium, puis mélanger au vortex 5 minute et on centrifuge à 4 000 tours/ min pendant 5 minute.
- **L'extraction 2 :** consiste à mélanger 0,3 g de la poudre avec 2 ml d'éthanol contenant 85 µl d'HCl. Après une incubation de 90 min à 40 °C, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium, puis mélanger au vortex pendant 5 minute et on centrifuge à 4 000 tours/ min pendant 5 minute.
- **L'extraction 3 :** consiste à mélanger 0,3 g de la poudre avec 2 ml d'éthanol contenant 85 µl d'HCl. Après une incubation de 90 min à 60 °C, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium, puis mélanger au vortex pendant 5min et centrifuger à 4000 tours/ min pendant 5min.
- **L'extraction 4 :** consiste à mélanger 0,3 g de la poudre avec 2 ml d'éthanol contenant 85 µl d'HCl. Après une incubation de 90 min à 80 °C, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7 g de sulfate d'ammonium, puis mélanger au vortex 5 minutes et on centrifuge à 4 000 tours/ min pendant 5 minutes.

Ensuite, les surnageant obtenus ont été récupérer pour le dosage des polyphénols et de flavonoïdes.

4.6 Optimisation de temps d'extraction

Quatre extractions ont été réalisées avec des temps d'extraction différents (90, 180, 270 et 360 min)

- **Extraction 1 :** On ajoute 0,3 g de la poudre à 2 ml d'éthanol contenant 85 µl de HCl. Après incubation de 90 minutes à 40 °C dans le bain marie, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7g de sulfate d'ammonium. Suivi d'un mélange au vortex de 5 min et une centrifugation de 5 min à 4000 tours/min.

- **Extraction 2 :** On ajoute 0,3 g de la poudre à 2 ml d'éthanol contenant 85 µl de HCl. Après incubation de 180 minutes à 40 °C dans le bain marie, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7g de sulfate d'ammonium. Suivi d'un mélange au vortex de 5 min et une centrifugation de 5 min à 4 000 tours/min.
- **Extraction 3 :** On ajoute 0,3 g de la poudre à 2 ml d'éthanol contenant 85 µl de HCl. Après incubation de 270 minutes à 40 °C dans le bain marie, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7g de sulfate d'ammonium. Suivi d'un mélange au vortex de 5 min et une centrifugation de 5 min à 4 000 tours/min.
- **Extraction 4 :** On ajoute 0,3 g de la poudre à 2 ml d'éthanol contenant 85 µl de HCl. Après incubation de 360 minutes à 40 °C dans le bain marie, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7g de sulfate d'ammonium. Suivi d'un mélange au vortex de 5 min et une centrifugation de 5 min à 4 000 tours/min.

Ensuite, les surnageant obtenus ont été récupérer pour le dosage des polyphénols totaux et les flavonoïdes.

4.7 Méthode finale optimisée

Une extraction a été réalisée en utilisant les différents paramètres à optimiser 0,3g de poudre sont mélangés avec 2ml d'éthanol pur contenant 85µl de HCl pur. Après incubation pendant 90 minutes à une température de 40°C dans le bain marie, on ajoute 3 ml d'eau distillée contenant 1,7g de sulfate d'ammonium. Suivi d'un mélange au vortex de 5 min et une centrifugation pendant 5 min à 4 000 tours/min.

5 Dosage des composés phénoliques

5.1 Dosage des polyphénols totaux

Folin-Ciocalteu est un réactif phénolique composé d'acides hétéropolyques, d'acides phosphomolybdique et phoshotungstique. La formation du bleu de molybdène et du bleu de tungstène est due à la réduction avec l'utilisation de certains agents réducteurs [73].

Mode opératoire

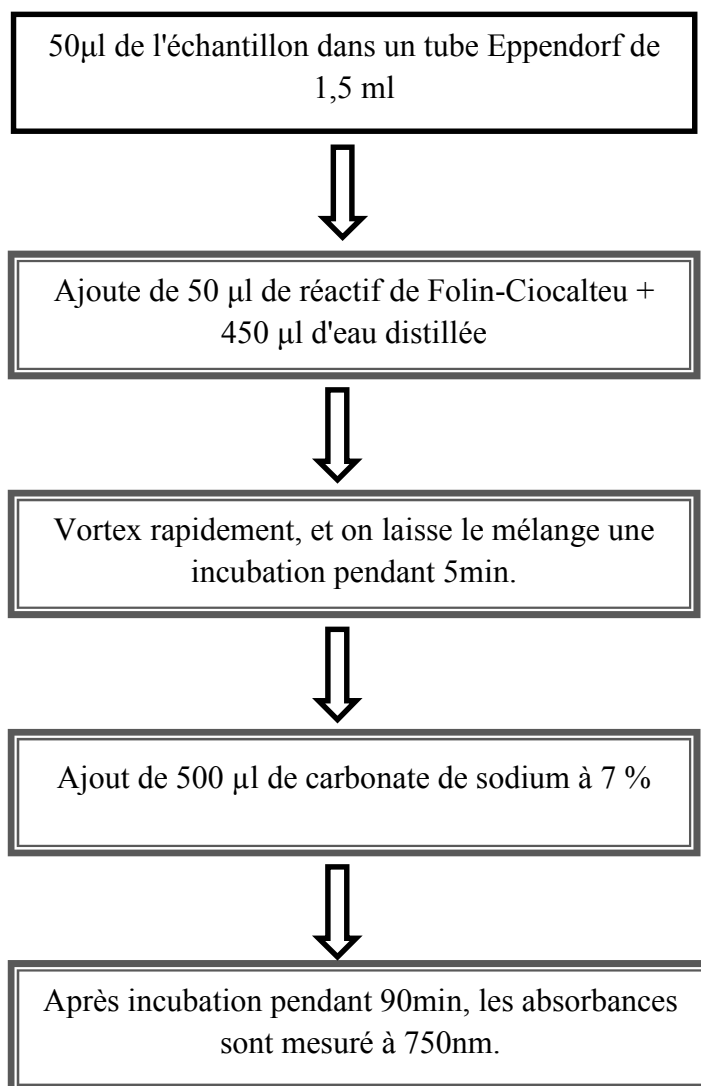


Figure 14 : Protocole de dosage des polyphénols totaux [74].

Au même temps, on a élaboré une courbe d'étalonnage dans les mêmes conditions en utilisant l'acide gallique sur une gamme de concentration [1- 12] µg/ml [74].

L'extrait contient une concentration totale de composés phénoliques, exprimée en mg d'acide gallique correspondant par 100 g de poudre sèche (mg EAG/100g PS) [74].

5.2 Dosage des flavonoïdes

On utilise la méthode du trichlorure d'aluminium pour mesurer la quantité de flavonoïdes présents dans les divers extraits [75].

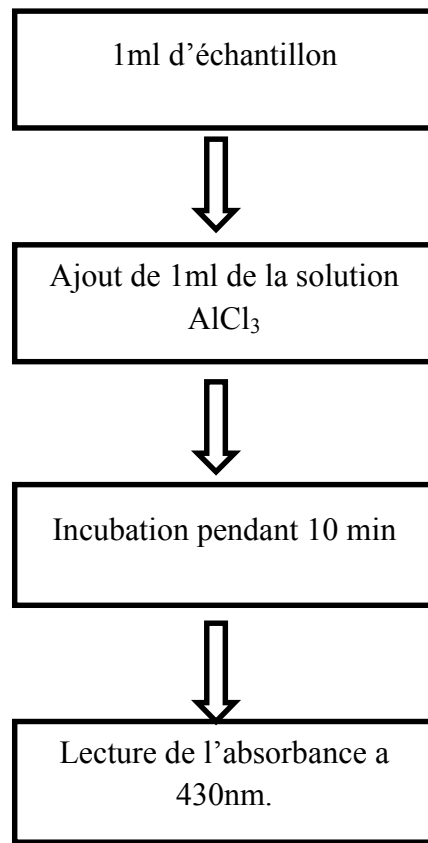
Mode opératoire

Figure 15 : Protocole de dosage des flavonoïdes. [75]

On déduit les teneurs en flavonoïdes des différents extraits en utilisant la gamme d'étalonnage [0-40] µg/ml établie avec la quercétine.

6 Détermination de l'activité antioxydante

6.1 L'activité anti radicalaire

Le radical DPPH (2,2- Diphényle-picrylhydrazine) est employé afin d'évaluer la capacité antioxydante d'un composé. Dans le cas d'un anti-radicalaire, la diminution se manifeste par un changement de couleur de la solution, passant du violet au jaune. On évalue alors la réaction en estimant l'absorbance de la solution à l'aide d'une spectrophotométrie à 517 nm. La différence entre la couleur violette et jaune est associée à la capacité antioxydante [76].

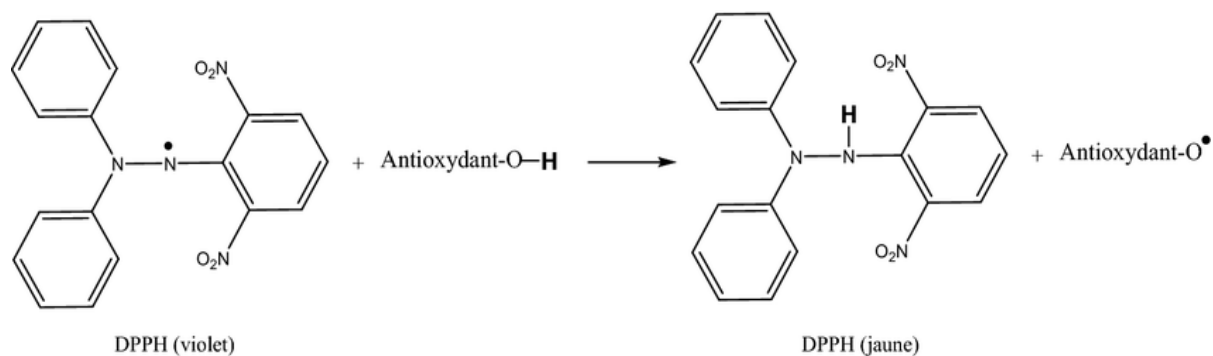


Figure 16 : Réduction du radical DPPH [76].

Mode opératoire

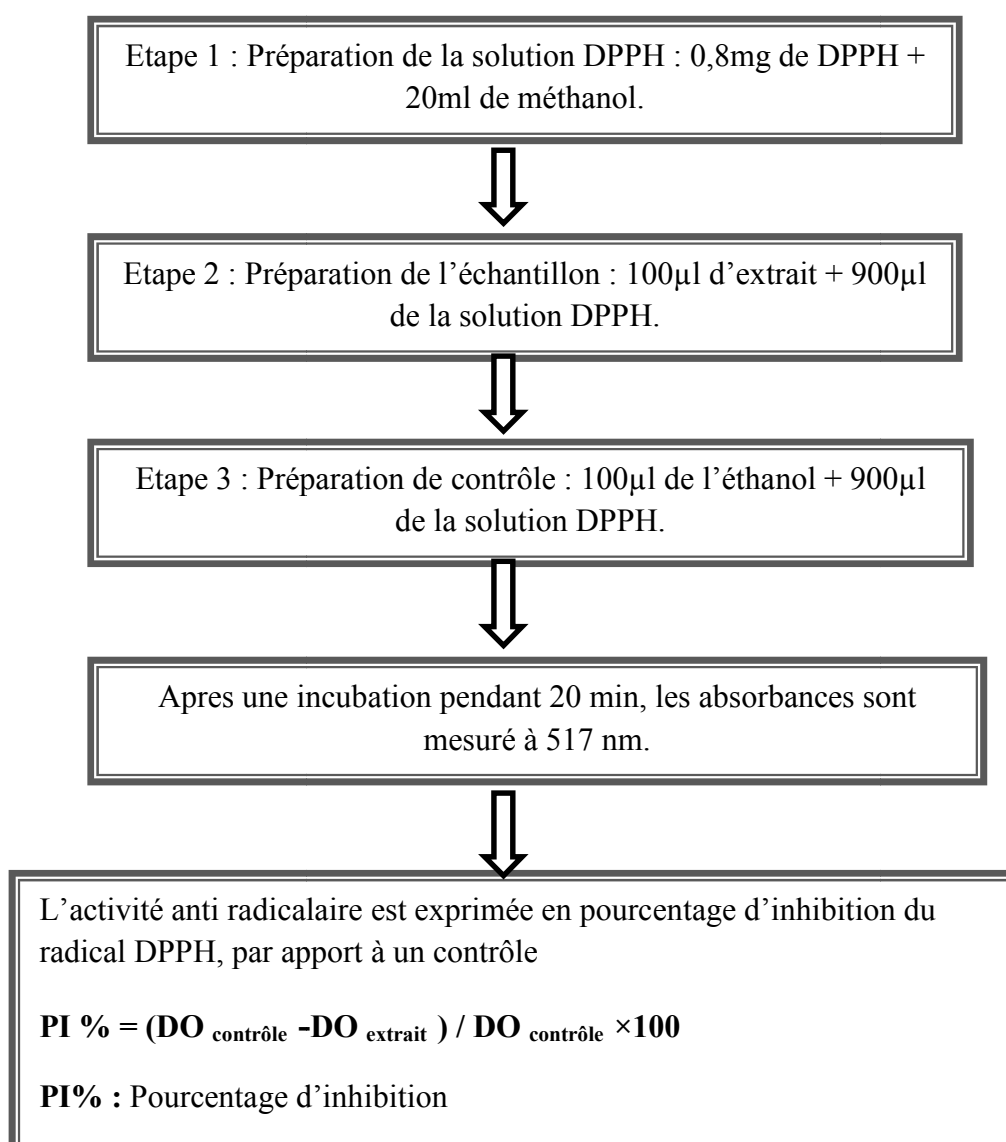
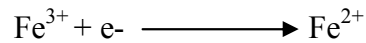


Figure 17: Protocole de l'activité anti-radicalaire (DPPH) [77].

6.2 Pouvoir réducteur ferrique

L'effet réducteur d'un extrait est lié à son effet antioxydant. Cette méthode a été mise au point afin d'évaluer la capacité des extraits à convertir le fer ferrique (Fe^{3+}) qui fait partie du complexe $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ en fer ferreux (Fe^{2+}). Le fer ferrique, d'abord jaune, diminue et devient bleu ou vert en présence d'un électron. L'évolution du jaune vers le bleu ou le vert est liée à l'activité antioxydante [76].



Mode opératoire

Selon la méthode d'Oyaizu (1986), on évalue le pouvoir réducteur ferrique des extraits.

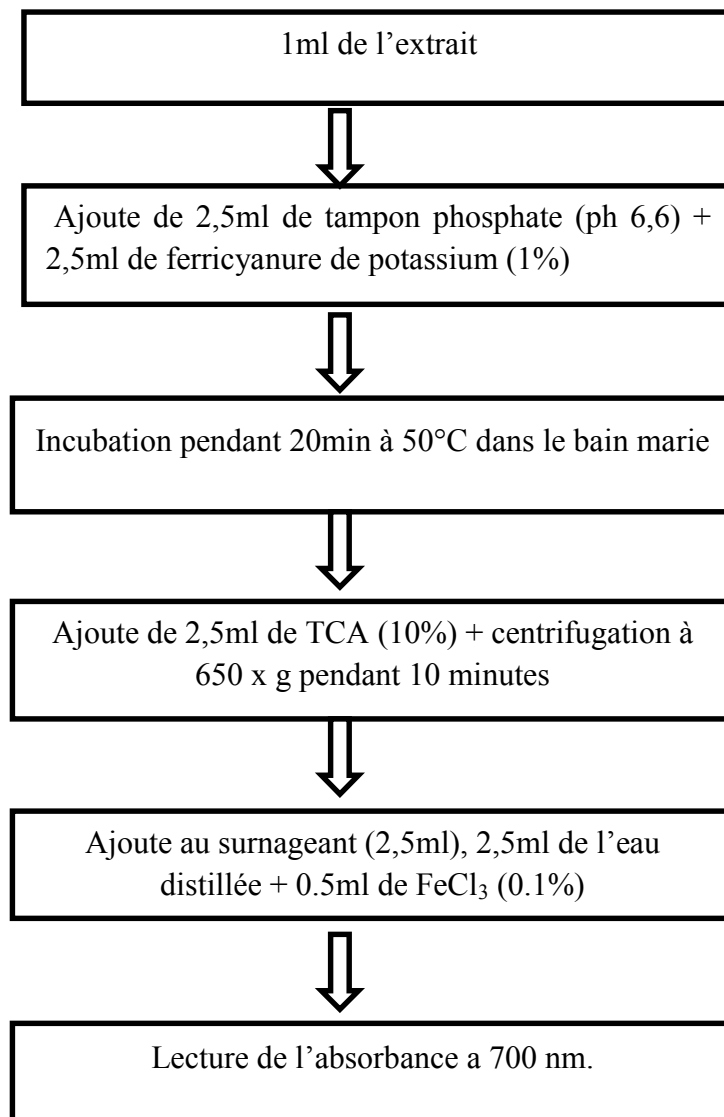


Figure 18: Protocole de pouvoir réducteur ferrique [78].

Chapitre 4:

Résultats et discussions

1 Etude préliminaire

Avant d'optimiser l'extraction des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux à partir des graines de tomate, nous avons réalisé une étude préliminaire en utilisant des méthodes d'extraction solide liquide et liquide-liquide combinées avec la méthode de salting-Out, une étude préliminaire a été réalisée pour déterminer les paramètres optimaux.

Ces paramètres devaient être définis tout en modifiant les autres lors du processus d'optimisation.

Les résultats ont déterminé les valeurs optimales sélectionnées pour les divers paramètres optimisés comme suit :

- l'éthanol a été choisi comme le meilleur solvant d'extraction à un volume de 2 ml ;
- la température 40°C ;
- 85µl de HCl;
- 1,7gde sulfate d'ammonium ;
- 90 minutes pour le temps.

1.1 Calcule du pourcentage de la matière sèche

La détermination du taux de matière sèche repose sur la mesure de la quantité d'eau contenue dans les échantillons à analyser.

➤ Le calcule de taux d'humidité (%) = $M1 - M2 / M1 \times 100$

$$\text{Taux d'humidité (\%)} = (38,24 - 35,66 / 38,24) \times 100$$

Donc, Taux d'humidité (%) = **6,74%**

➤ Taux de matière sèche (%) = $(M2 / M1) \times 100$

$$\text{Le pourcentage de matière sèche} = (35,66 / 38,24) \times 100$$

Donc, le taux de la matière sèche = 93,26%.

Les résultats indiquent que les graines de tomate contiennent un taux d'humidité est de 6,74 % inférieur à 7 %. Et un taux de matière sèche est correspondant à 93,26%.

1.2 Optimisation de type de solvant d'extraction

Dans cette étude, divers solvants ont été testés pour l'extraction des composés phénoliques présents dans les graines de tomate.

Les résultats présentés dans la figure 19 montrent que tous les extraits de graines de tomate contiennent des composés phénoliques et des flavonoïdes, mais avec des variations quantitatives en fonction du solvant utilisé. Parmi les solvants testés, le meilleur rendement est obtenu avec l'éthanol (5,895 mg EAG/100g MS) pour les polyphénols totaux, et (18,670mg Eq en quercétine/100g MS) pour les flavonoïdes, suivi respectivement par le méthanol et l'acétone.

En outre, l'extrait d'acétone présente le rendement le plus bas lors du dosage des polyphénols totaux, avec une concentration de (1,586 mg EAG/100g MS), tandis que le méthanol présente le plus faible taux de dosage des flavonoïdes avec une concentration de (7,025 mg Eq en quercétine/100g MS).

Selon ces résultats, l'éthanol a été identifié comme le solvant d'extraction optimal et le plus efficace pour extraire à la fois les composés phénoliques et les flavonoïdes totaux. Il est établi que l'extraction des composés phénoliques est plus efficace lorsque le poids moléculaire du solvant est élevé.

La polarité et le constant diélectrique de solvant sont essentiels car elles permettent d'extraire des substances par solubilisation. Comme les polyphénols ont un large éventail de solubilités, une combinaison d'éthanol et d'eau peut être plus avantageuse et efficace pour la séparation de n'importe quel solvant seul. En outre, en augmentant la concentration des solvants, il est envisageable d'améliorer la perméabilité du solvant dans la matrice solide [79].

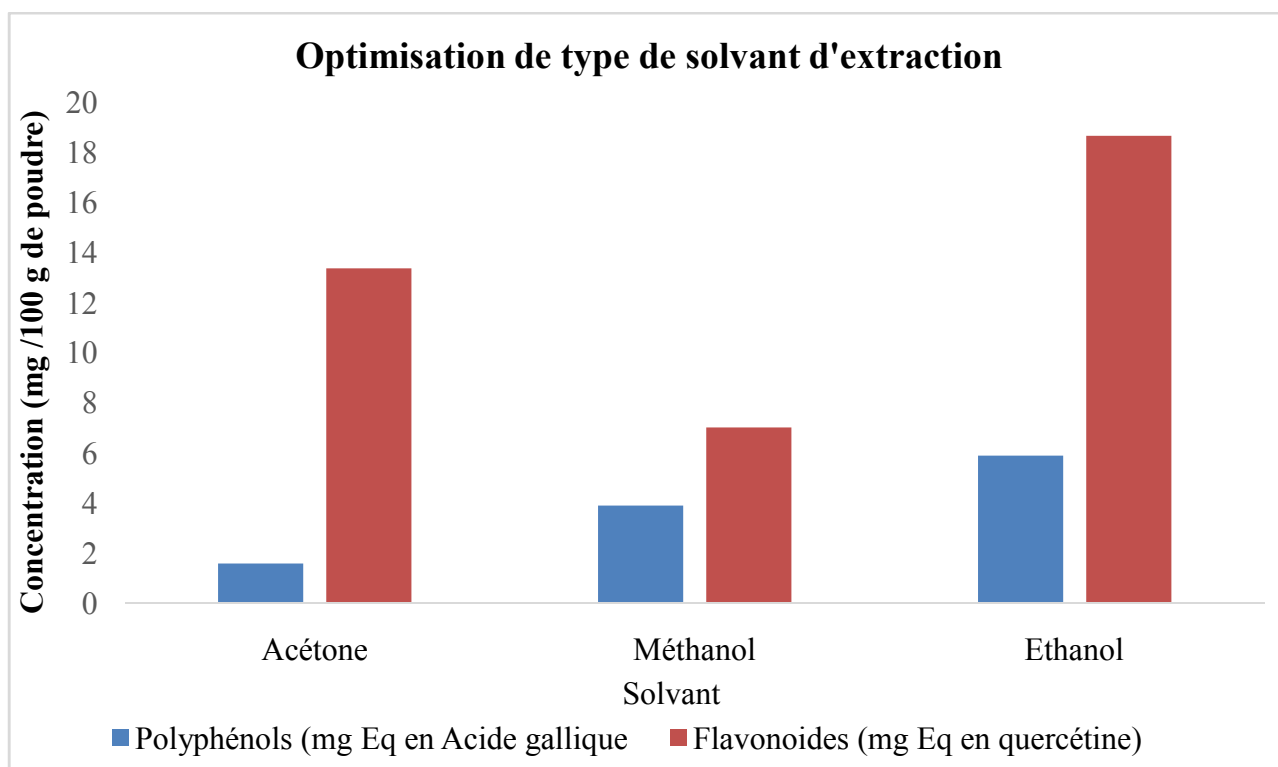


Figure 19 : L'effet de différents solvants sur la concentration en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits de graine de tomate.

1.3 Optimisation de volume de solvant d'extraction

Divers volumes d'éthanol ont été utilisés, les résultats de la figure 20 indiquent que le rendement optimal pour l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes est atteint avec un volume de 2 ml d'éthanol avec une concentration de (7,738mg EAG/100g MS), tandis que les flavonoïdes ont une concentration de (9,748 mg Eq en quercétine/100gMS).

Il est également à noter qu'une diminution progressive du rendement, avec une augmentation du volume d'éthanol (à 3ml, 4ml et 5ml) jusqu'à atteindre un minimum correspondant au volume de 5ml (3,171mg EAG/100g MS).

En prenant en compte le volume d'éthanol de 2 ml, qui produit un rendement satisfaisant dans cette analyse, il est observé que l'efficacité de l'extraction dépend directement de l'effet de dilution des composés extraits lors de l'utilisation de volumes plus importants.

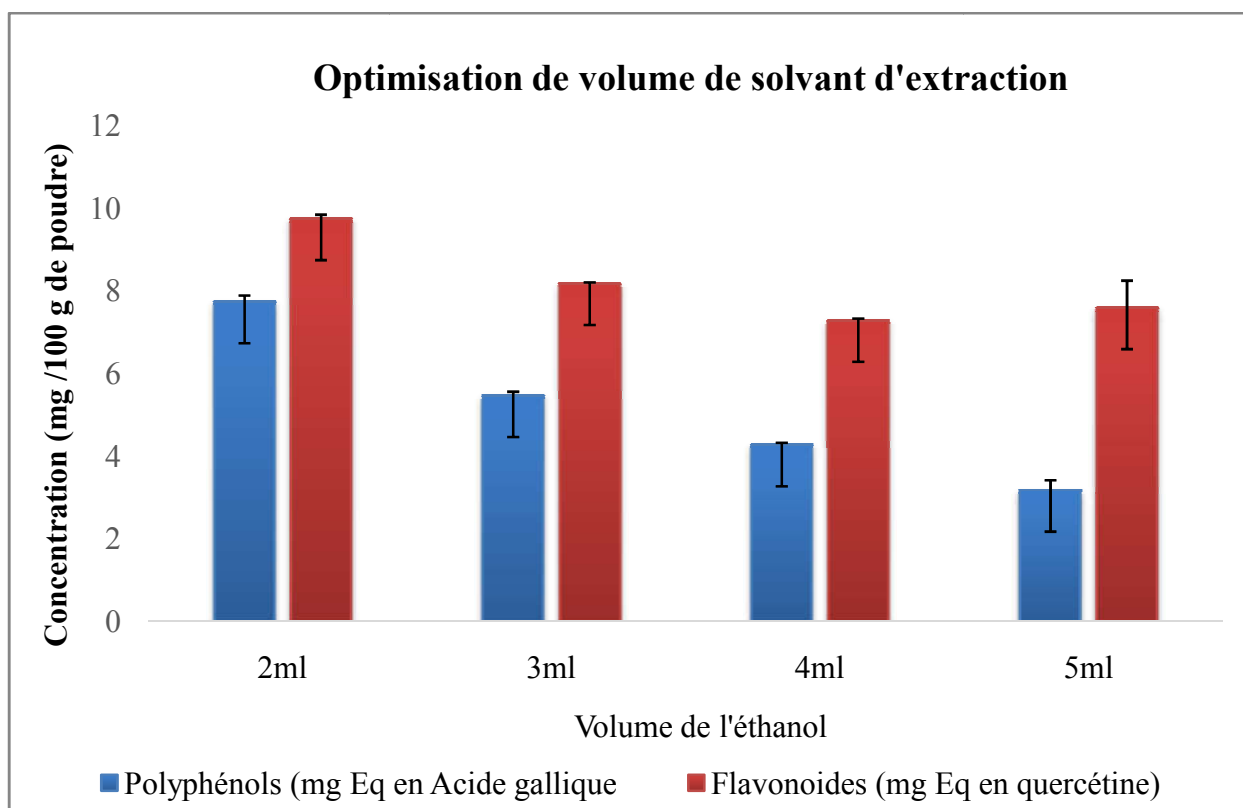


Figure 20 : L'effet de l'éthanol sur la teneur en composés phénoliques et en flavonoïdes des extraits de graine de tomate.

1.4 Optimisation de la quantité de sulfate d'ammonium

La figure 21 montre l'effet de la concentration de sulfate d'ammonium sur l'extraction des composés phénoliques et des flavonoïdes des graines de tomate. Les résultats obtenus montrent une récupération faible avec 1,9 g de sulfate d'ammonium, ce qui correspond à une concentration de (7,752 mgEAG/100 g de matière sèche) pour les polyphénols totaux, Alors que le meilleur rendement est obtenu avec 1,7 g de sel, ce qui équivaut à une concentration de (20,065 mg Eq en quercétine/100g de MS) pour les flavonoïdes.

Après avoir examiné ces résultats, on conclut que la quantité de 1,7 g de sulfate d'ammonium a été choisie comme la plus adéquate pour l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes.

Selon les recherches de Fan et al, il a été observé que la concentration de phénols augmente en présence de sels lorsque la concentration saline dans la phase aqueuse est s'élève. Cet effet, connu sous le nom de relargage, survient parce que les molécules d'eau se lient aux sels dissous dans la solution aqueuse, ce qui diminue la concentration d'eau libre et augmente la

concentration relative des phénols. Par conséquent, plus la capacité d'hydratation du sel est élevée, plus son effet de relargage est élevé [80].

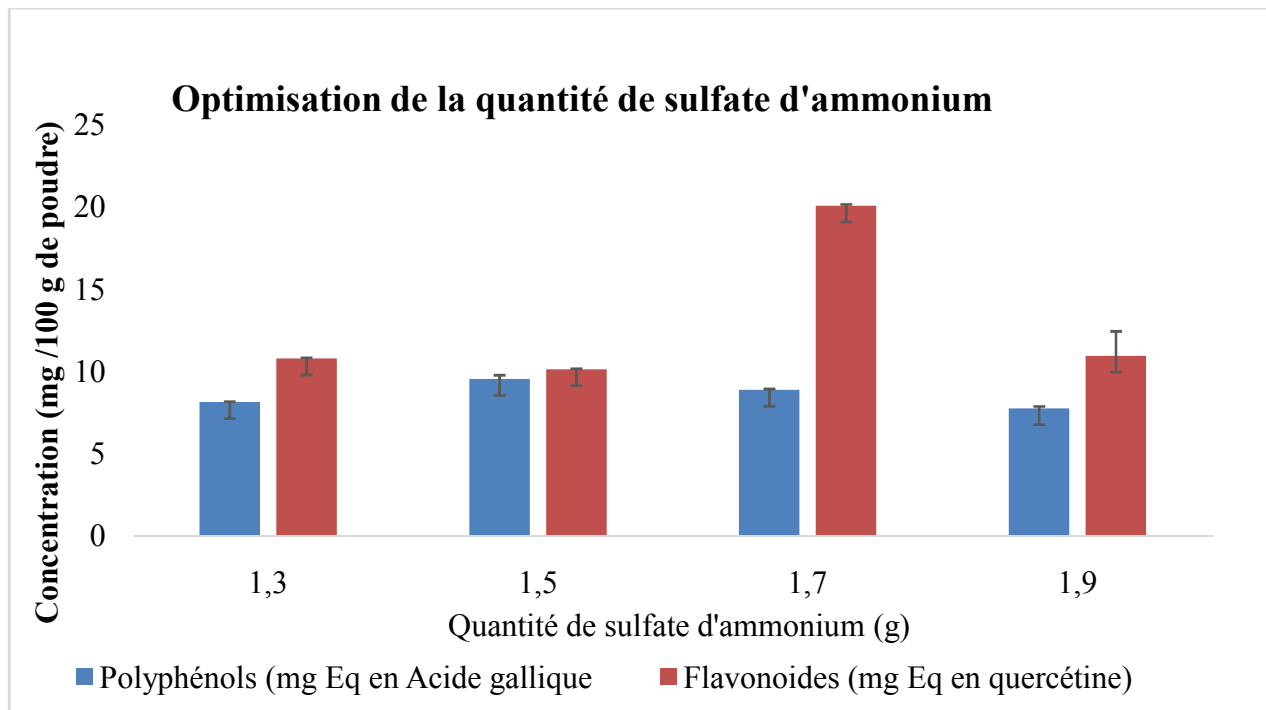


Figure 21: L'effet du sulfate d'ammonium sur la concentration en composés phénoliques et flavonoïdes des extraits de graines de tomate.

1.5 Optimisation de volume de HCl

L'étude de l'influence de volume de HCl indique qu'il a un effet bénéfique sur l'efficacité d'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes. D'après les résultats, le taux d'extraction avec de l'éthanol pur (21,694mg EAG/100g MS) pour les polyphénols totaux. Et dans les flavonoïdes une concentration de (25,361mg Eq en quercétine /100g MS), est nettement inférieur aux rendements obtenu avec l'éthanol acidifié contenant 85 μ l d'HCl avec une concentration (65mg Eq en quercétine/ 100g MS) pour les flavonoïdes, et une concentration de (28,74 mg EAG/100g MS) pour les composés phénoliques.

En ce qui concerne l'acidification de l'éthanol avec 170 μ l d'HCl et 340 μ l d'HCl, on a remarqué la formation d'un trouble probablement provenant de la formation des complexes insolubles entre l'HCl et le sulfate d'ammonium.

Selon les résultats présentés dans la figure 22, on observe que l'éthanol contenant 85 μ l de HCl produit les meilleurs résultats.

Le pH de l'échantillon exerce un effet spécifique sur le transfert des analytes cibles. Dans le solvant d'extraction, l'ajout d'acide pourrait avoir un effet sur la stabilité des composés phénoliques dans le solvant d'extraction et favoriser leur dissolution. Grâce à leur participation à la synthèse des polymères ou à leur interaction avec d'autres composés de la paroi cellulaire facilitent la solubilisation et la diffusion des composés phénoliques à travers la cellule à partir du matériau végétal. Tout fois, une forte concentration d'un acide peut entraîner une hydrolyse partielle et une détérioration des substances phénoliques [81].

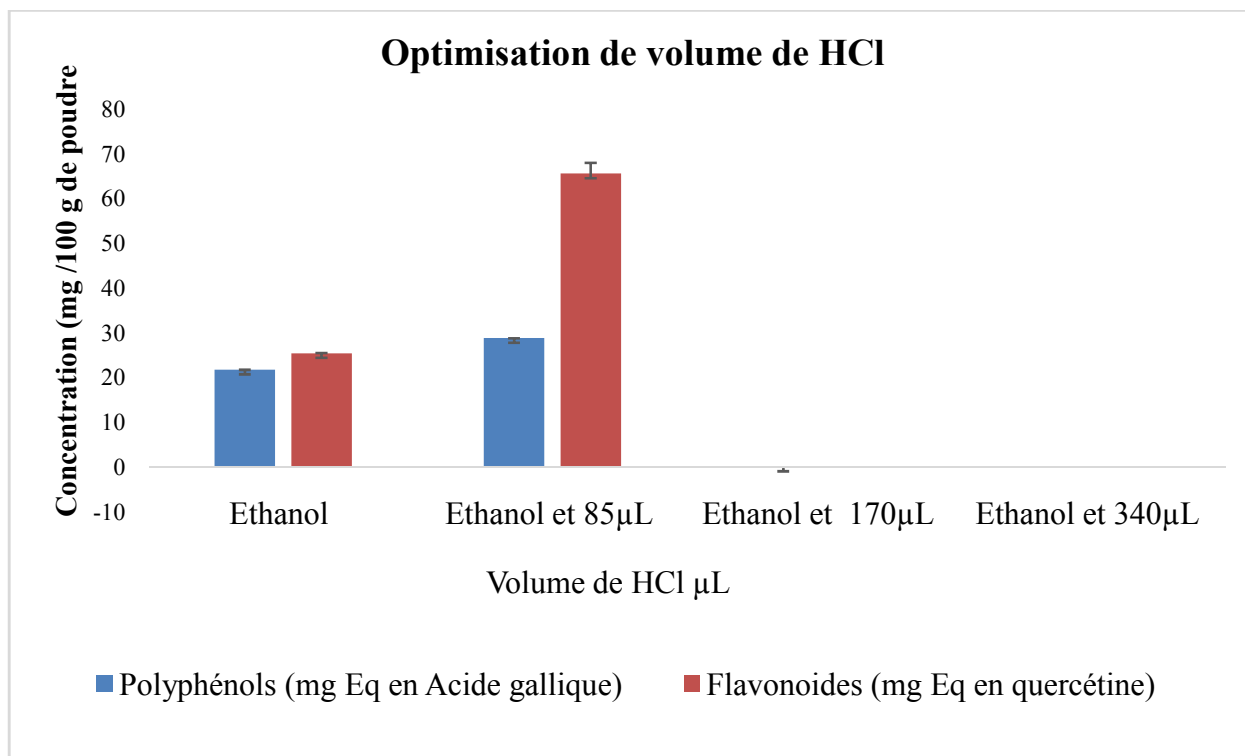


Figure 22: L'effet de volume de HCl sur la teneur en composés phénoliques des graines de tomate.

1.6 Optimisation de la température

Les résultats obtenus et illustrés dans la figure 23 montrent une augmentation significative des extraits de polyphénols totaux et de flavonoïdes à différentes températures d'extraction (T° ambiante, 40°C et 80°C), avec un rendement plus élevé à 40°C pour les polyphénols totaux (28,513mg EAG/100g MS) et pour les flavonoïdes (29,657mg Eq en quercétine/100g MS).

Le rendement des polyphénols totaux était plus faible (3,616 mg EAG/100g MS) et celui des flavonoïdes était (15,092mg Eq en quercétine/100g MS) à 60°C .

On conclut que la température à 40°C a été choisie comme la plus appropriée pour extraire les polyphénols totaux et les flavonoïdes.

La température élevée est connue pour améliorer le recouvrement des composés phénoliques. À des températures plus élevées, les tissus végétaux se ramollissent, perturbant les interactions entre les composés phénoliques et les protéines ou les polysaccharides, et augmente la solubilité des composés phénoliques. Cela conduit à une augmentation du taux de diffusion et donc à un taux d'extraction plus élevé [82].

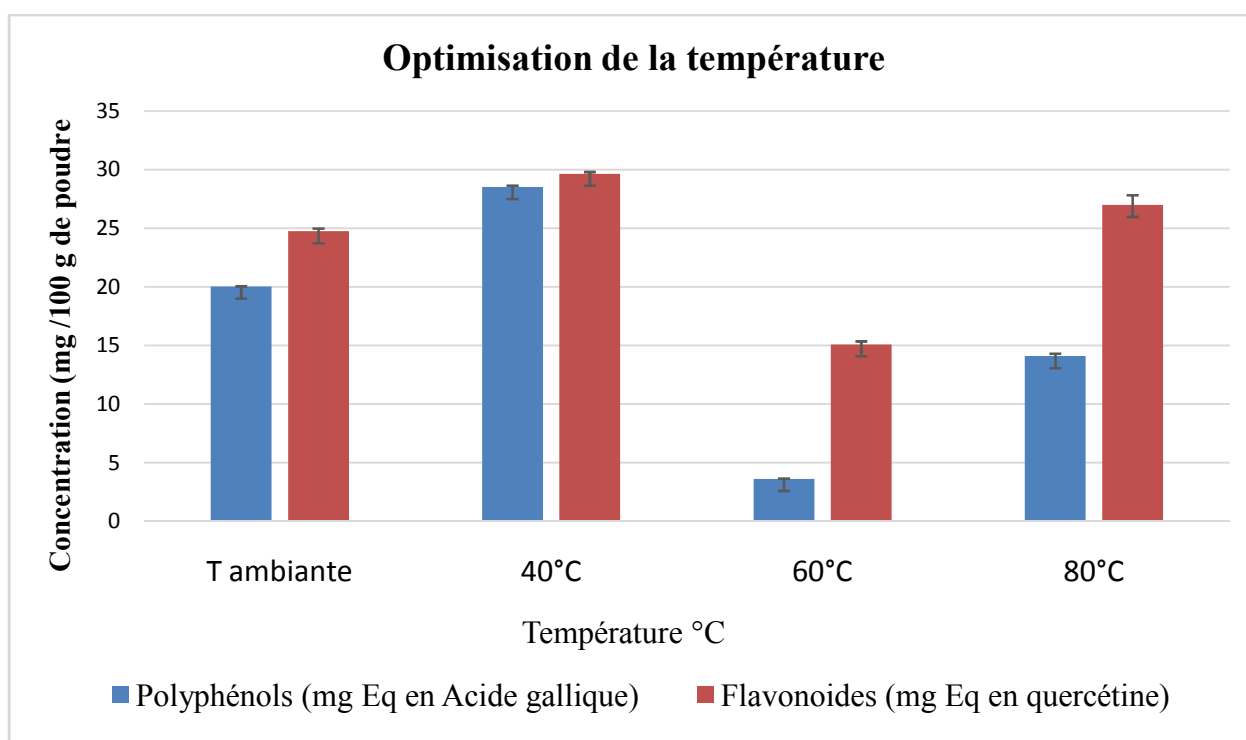


Figure 23: L'effet de la température d'extraction sur la teneur de la graine de tomate en composés phénoliques.

1.7 Optimisation de temps d'extraction

D'après les résultats de l'analyse des composés phénoliques totaux (CPT) et des flavonoïdes des extraits qui ont été extraits à différents temps d'extraction, comme illustré dans la figure 24, on constate une augmentation progressive dans le temps d'extraction (180 min, 270min, et 360min) jusqu'à une valeur maximale de (29,332mg Eq en quercétine/100g MS) à 270min pour les flavonoïdes, et une valeur de (18,322mg EAG/100g MS) à 180min pour les polyphénols totaux.

Selon l'analyse des résultats de ces différents temps d'extraction, il a été constaté que le temps de 90 minutes offre un meilleur rendement pour l'extraction des polyphénols totaux,

avec une valeur de (17,970mg EAG/100g MS), tandis que les flavonoïdes est de (14,541mg Eq en quercétine/100g MS).

Le temps d'extraction est crucial pour économiser l'énergie et le coût lors du processus d'extraction. L'augmentation de la durée d'extraction après 180 minutes n'a pas entraîné la récupération des composés phénoliques améliorée, à l'exception du TFC. Il est envisageable que cela peut être due à la deuxième loi de diffusion de Fick, qui assure un équilibre final entre les concentrations de soluté dans la matrice solide et dans la solution en vrac après un certain temps. Ainsi, il n'est pas nécessaire d'avoir un temps plus long pour extraire plus des composés phénoliques. Par ailleurs, une extraction plus longue accroît la probabilité d'oxydation des composés phénoliques. Il est possible d'empêcher cette oxydation en ajoutant des agents réducteurs au système de solvants [81].

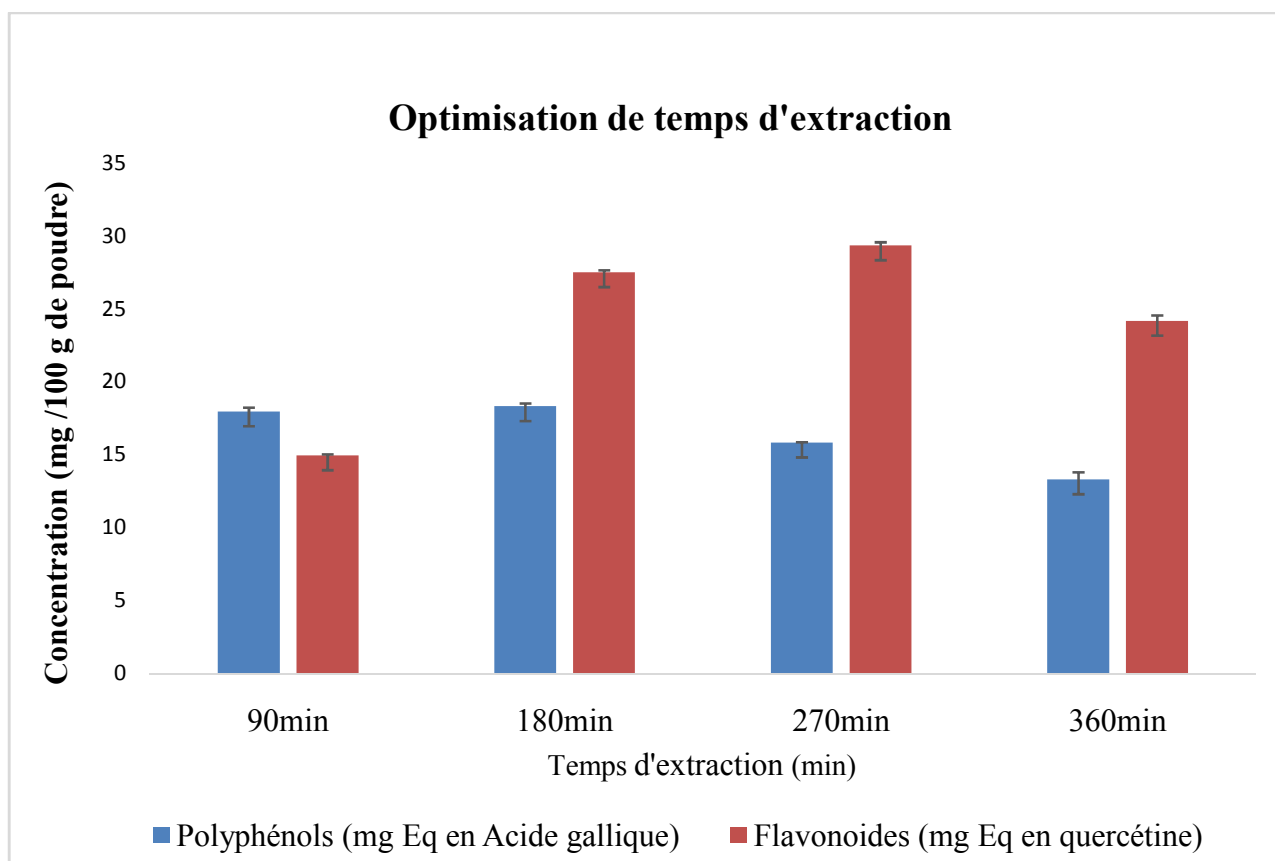


Figure 24 : L'effet du temps d'extraction sur la teneur en composés phénoliques des extraits de la graine de tomate.

2 Activité antioxydants

Il était nécessaire d'évaluer les propriétés antioxydants des extraits de la graine de tomate en effectuant deux tests d'activité: La dégradation du DPPH et la réduction du fer.

2.1 Test de DPPH

➤ Calcul de pourcentage d'inhibition

Le calcul de pourcentage d'inhibition selon la formule ci-dessous

$$\% \text{ inhibition} = (A0 - A1) / A0 \times 100$$

$$\% \text{ inhibition} = (0,891 - 0,422) / 0,891 \times 100$$

Donc, % inhibition = **52,64 %**

A0 = Absorbance de control.

A1 = Absorbance de l'échantillon

D'après c'est résultats, Il est observé que les graines de la tomate renferment une grande quantité de composés antioxydants.

2.2 Pouvoir réducteur ferrique

La capacité de réduction de l'extrait de graine de tomate est évaluée en fonction de leur absorbance, en se basant sur la courbe d'acide ascorbique montrée dans la figure 25. Le fer Fe^{3+} complexe ferricyanide est transformé en une forme ferreuse en présence de réducteurs dans l'extrait. Il est donc possible de mesurer et d'observer l'intensité de la couleur bleu-vert dans le milieu réactionnel à 700nm afin d'évaluer la concentration en Fe^{2+} .

Par conséquence, le mécanisme $FeCl_3 + K_4 [Fe(CN)_6] = FeCl_2 + K_3 [Fe(CN)_6] + KCl$ permet à la méthode de mesurer «semi-quantitativement» les concentrations des polyphénols, qui sont impliqués dans la réaction redox [83].

Selon nos résultats, l'extrait des graines de tomate présente une concentration (252,78 Eq Acide Ascorbique/ 100 g MS). On peut donc affirmer que les graines de la tomate ont un bon pouvoir réducteur.

On peut expliquer ces résultats par la présence de composés donneurs d'électrons qui entraînent la conversion de Fe^{3+} en Fe^{2+} .

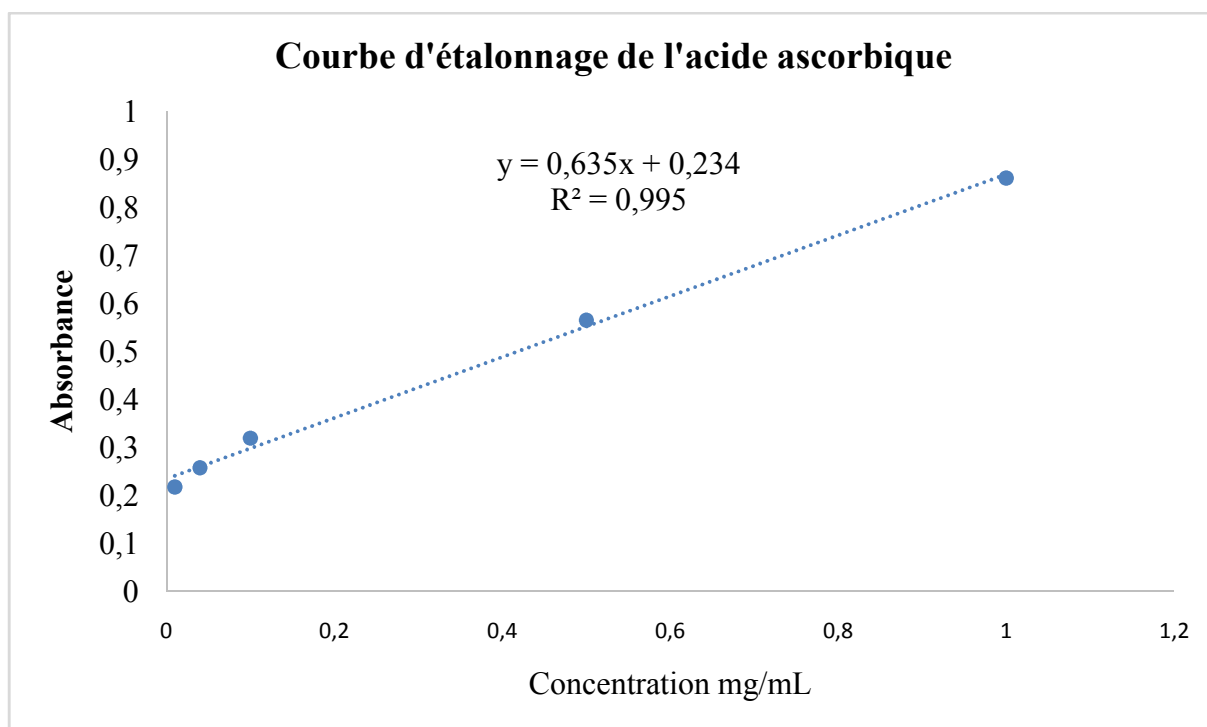


Figure 25 : Courbe d'étalonnage de l'acide ascorbique

Conclusion

Cette étude visait à optimiser l'extraction des composés phénoliques présents dans les graines de tomate en utilisant des méthodes combinées de l'extraction solide-liquide et liquide-liquide par salting-out.

Nous avons réalisé une étude approfondie sur les rendements des composés phénoliques totaux et des flavonoïdes totaux extraits des graines de tomate. Cette recherche a été réalisée tenant en compte divers paramètres tels que le choix du solvant, le volume de solvant, la quantité de sulfate d'ammonium, le volume de HCl, le temps d'extraction et la température adéquate.

Les conditions d'extraction optimale qui ont contribué aux rendements les plus élevés en composés phénoliques totaux (CPT) et flavonoïdes totaux (FT) étaient les suivants : l'utilisation d'éthanol comme solvant d'extraction avec un volume de 2 ml, associé à 1,7 g de sulfate d'ammonium. Le processus s'est déroulé avec un volume de 85µl d'HCl, un temps d'extraction pendant 90 minutes et une température de 40°C.

Les extraits optimisés des graines de tomate dans cette étude ont démontré une forte activité antioxydante, caractérisée par un pouvoir réducteur élevé. Ainsi qu'une forte activité anti-radicalaire contre le radical DPPH. Ces résultats démontrent que les extraits des graines de tomate sont une source importante d'antioxydants naturels. Ces extraits peuvent être utilisés de manière efficace comme agents conservateurs pour prévenir l'oxydation des produits alimentaires et cosmétiques, ainsi que pour enrichir les matrices alimentaires.

Pour approfondir cette étude, Il serait intéressant de mener une analyse des composés phénoliques des extraits des graines de tomate. Il serait aussi pertinent d'examiner les effets de leur incorporation sur la préservation et l'enrichissement des différentes matrices végétales, comme les concentrés de tomate, la mayonnaise et la margarine. En outre, il serait intéressant d'explorer l'optimisation de l'extraction des caroténoïdes.

Références bibliographiques

- [01] **Naika. Sh, Joep. V, Marja G, Martin H, Barbara V** (2005). Agrodok 17 - Cultivation of tomato: production, processing and marketing. Wageningen, p6-93.
- [02] **Iqbal RK, Saeed K, Khan A, Noreen I, Bashir R** (2019) Tomato (*Lycopersicum Esculentum*) Fruit Improvement through Breeding. Scholar Journal of Applied Sciences and Research. Vol: 2, Issu: 7 (21-25).
- [03] **Naika, S. Van Lidt de Jeude, J. de Goffau, M. Hilmi, M. and Van Dam, B** (2005) Cultivation of tomato. Production, processing and marketing. In: B. Van Dam (ed.), Digigrafi, Wageningen, and the Netherlands.
- [04] **Raffy, L.**2006.La tomate et ses secrets de famille. Equation Nutrition, vol 55, N5, p3.
- [05] **Duma. M, Alsina .I, Dubova. L, Erdberga.I** (2015) Chemical composition of tomatoes depending on the stage of ripening. Cheminé Technologia.Nr. 1 (66).
- [06] **Ramesh. K S, Ahmad .J Z, Young.S K** (2017) Ripening improves the content of carotenoid, a-tocopherol, and polyunsaturated fatty acids in tomato (*Solanum Lycopersicum L.*) fruits. 3 Biotechnology (2017) 7:43. DOI 10.1007/s13205-017-0666-0.
- [07] **Garcia-Alonso.F.J, Valverde. V.G, Gonzalez. I N, Pozuelo .G M, Barrio .R.G, Perriago. M J.** Nutritional Composition and Antioxidant Properties of Fruits and Vegetables. Spain, 2020. Chap15. Tomato. P255-271.
- [08] **Oboulbiga, E.B., Parkouda, C., Sawadogo-Lingani, H., Compaoré, E.W.R., Sakira, A.K. and Traoré, A.S.** (2017) Nutritional Composition, Physical Characteristics and Sanitary Quality of the Tomato Variety Mongol F1 from Burkina Faso. Food and Nutrition Science, 8, 444-455. <https://doi.org/10.4236/fns.2017.84030>.
- [09] **Degrou. A,** (2013) Etude de l'impact des procédés de transformation sur la diffusion des caroténoïdes : cas de lycopène de la tomate. Thèse de doctorat, université d'Avignon et des pays de Vaucluse.190p.
- [10] **Waqas W, Gerald E. Brust, Thomas M. Perring,** Tomato and Management of Associated Arthropod Pests: Past, Present, and Future (2018). Chap1. Sustainable Management of Arthropod Pests of Tomato. P3-12. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-802441-6.00001-2>

Références bibliographiques

- [11] **Costa. J.M, Heuvelink.E,** Introduction: The tomato crop and industry. Netherlands, 2004. Chapitre 1. Tomatoes. P1-16.
- [12] **APRIA** : Association pour la Promotion Industrie Agriculture (1969). Utilization des déchets végétaux. 53031/082,180-186 pp.
- [13] **Yasmini P. A. Silva, Bárbara C. Borba, Vanessa A. Pereira, Marcela G. Reis, Márcio Caliarí, Marianne Su-Ling Brooks & Tânia A. P. C. Ferreira** (2018): Characterization of tomato processing by-product for use as a potential functional food ingredient: nutritional composition, antioxidant activity and bioactive compounds, International Journal of Food Sciences and Nutrition. ISSN: 0963-7486 (Print) 1465-3478.DOI: <https://doi.org/10.1080/09637486.2018.1489530>.
- [14] **Ramandeep K. Toor, Geoffrey P. Savage,** (2005) Antioxidant activity in different fractions of tomatoes, Food Research International 38 p487–494.
- [15] **Renata .G B, Elizabeth A. Ferraz Da Silva Torres** (2009) Tomatoes and Tomato Products as Dietary Sources of Antioxidants, Food Reviews International, 25:4, 313-325, DOI: 10.1080/87559120903155859.
- [16] **Xianli Wu, Liangli Yu, Pamela R Pehrsson.** (2021) Are Processed Tomato Products as Nutritious as Fresh Tomatoes? Scoping Review on the Effects of Industrial Processing on Nutrients and Bioactive Compounds in Tomatoes.13:138–151.
- [17] **Macheix, J. Fleuriet, A. Jay-Allemand, C.** (2005). Les composés phénoliques des végétaux : un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne., p. 4-5
- [18] **Neve, J. et Pincemail, J.** (2008). Antioxydants alimentaires: vitamines, oligoéléments et non nutriments. In « aliments fonctionnels ». 2ème édition. Lavoisier PP. 203-953.
- [19] **Vautrin, D.** (2005). Une peau Zéro défaut. Editions Alpens.a.m. p 52.
- [20] **Hoffman, M., Góra, M., & Rytka, J.** (2003). Identification of rate-limiting steps in yeast heme biosynthesis. Biochemical and Biophysical Research Communications, 310(4), 1247–1253.

Références bibliographiques

- [21] **Boubekri.Ch** (2014). Etude de l'activité antioxydante des polyphénols extraits de *Solanum melongena* par des techniques électrochimiques. Thèse de Doctorat, Université Mohamed Khider – Biskra, p 24.
- [22] **Corona. G** (2011). Seaweed polyphénols: bioavailability and Healthy benefits. *Bioactive from Seaweed, and Innovative Ingredients in Salt Reduction*, p 5.
- [23] **Manach. C, Scalbert. A, Morand. C, Remesy. C, Jimenez. L** (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79(5): pp 727-747.
- [24] **Gharras. H** (2009). Polyphenols: Food sources, properties and applications-A review. *International Journal of Food Science and Technology*. 44(12): pp 2512-2518.
- [25] **Fleuriet. A, Jay-Allemand. C, Macheix. J.J** (2005). Composés phénoliques des végétaux un exemple des métabolites secondaires d'importance économique. Presses polytechniques et universitaires romandes, pp 121-216.
- [26] **Lobstein. A** (2010). Substances naturelles et pharmacognosie, les alcaloïdes, p 3-25.
- [27] **Andersson, C.-M., Hallberg, A., & Högberg, T.** (1996). Advances in the development of pharmaceutical antioxidants. *Advances in Drug Research* Volume 28, 65–180.
- [28] **Axelson. M, Sjovall. J, Gustafsson. B.E, Setchell. K.D** (1982). Origin of lignans in mammals and identification of a precursor from plants. *Nature*, 298: pp 659-660.
- [29] **Muanda. F.N** (2010). Identification de polyphénols, évaluation de leur activité antioxydante et étude de leurs propriétés biologiques. Thèse de Doctorat, Université Paul Verlaine-Metz, p 60.
- [30] **Tsimogiannis, D.I. Oreopoulou, V.** (2006). The contribution of flavonoids C-ring on the DPPH free radical scavenging efficiency. A kinetic approach for the 3V, 4V-hydroxy substituted members. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 7:140 – 146.
- [31] **Stalikas, C.D.** (2010). Phenolic Acids and Flavonoids: Occurrence and Analytical Methods. IN: Uppu R.M., Murthy S.N., Pryor W.A., Parinandi N.L., 2010. *Methods In Molecular Biologytm: Free Radicals and Antioxidant Protocols*. 2ème édition, New York.p66.
- [32] **Erdman, J.W., Balentine, D., Arab, L., Beecher, G., Dwyer, J.T., Folts, J., Burrowes, J.** (2007). *Flavonoids and Heart Health: Proceedings of the ILSI North America*

Références bibliographiques

Flavonoids Work shop, May 31–June 1, 2005, Washington, DC. *The Journal of Nutrition*, 137(3), 718S–737S.

[33] **Jakupovic. J, Paredes. L, Bohlmann. F, Watson. L** (1988). Prenyl flavanes from *Marshallia* species. *Phytochemistry*. 27(10): p 3273.

[34] **Sartori-Thiel. A** (2003). Activités antimicrobiennes d'extraits végétaux enrichis en polyphénols. *Science et Agronomie ED 380 Doctorat*: p 177.

[35] **Leopoldini. M, Russo.N, Toscano. M** (2011). The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chemistry*. 125(2): p 288-306.

[36] **Korkina. L, De Luca.C, Pastore. S** (2012). Plant polyphenols and human skin: Friends or foes. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1259: pp 77-86.

[37] **Scalbert .A; Williamson. G** (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphénols. *American Journal of Clinical Nutrition*. 130: pp 2073-2085.

[38] **Frankel. E.N, Water house. A.L, Teissedre. P.L** (1995). *Agricultural. Food. Chemistry*. 43: pp 221-235.

[39] **Alidert. J, Ranjeva. R, Boudet. M.A** (1977). Organisation subcellulaire des voies de synthèses des composés phénoliques. *Physiologie Végétale*. 15: pp 279-301.

[40] **Brouillard. R, &Delaporte. B** (1997). *Journal American Chemical Society*. 1999. pp 8461-8468.

[41] **Lugasi. A, Hovari. J, Sagi. K.V, Biro. L** (2003). The role of antioxidant phytonutrients in the prevention of diseases. *Acta Biologica Szegedientis*.1-4: pp 119-125.

[42] **Bessas. A, Ben moussa. L, Kerarma. M**(2007) Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien. Mémoire d'ingénieur en biologie. Université Djilaliliabes, (sidi bel-abbés): 1-14.

[43] **Audigié. C.I, Dupont. G, Zonzain. F**. Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tome I. Chap. 2: Méthodes de fractionnement: filtration, sédimentation (centrifugation et ultracentrifugation), électrophorèse, chromatographie. Doin Editeurs, Paris, 1995: 7-84.

Références bibliographiques

- [44] **Garcia-Salas.P, Morales-Soto. A ; Segura-Carretero.A ; Fernández-Gutiérrez.A** (2010) Phenolic-Compound-Extraction Systems for Fruit and Vegetable Samples, *Molecules*, 15, p 8813-8826.
- [45] **Herrero.M, Plaza. M, Cifuentes. A, Lbanez.E** (2012) Extraction Techniques for the Determination of Phenolic Compounds in Food, *Comprehensive Sampling and Sample Preparation*, Volume 4. P159-180.
- [46] **Ghenabzia.I, Hemmami.H, Ben Amor.I, Zeghoud.S, Ben Seghir.B , Hammoudi.R** (2023) Different methods of extraction of bioactive compounds and their effect on biological activity, *International Journal of Secondary Metabolite*. Vol. 10, No. 4, 469-494.
- [47] **Manousi. N, Sarakatsianos.I, Samanidou.V.** Extraction techniques of phenolic compounds and other bioactive compounds from medicinal and aromatic plants. Chap10, *Engineering Tools in the Beverage Industry*, p 283-314.
- [48] **López-Bascón, M. A., & Luque de Castro, M. D** (2020). Soxhlet Extraction. *Liquid-Phase Extraction*, 327–354.
- [49] **Usman.I, Hussain.M, Imran.A, Afzaal.M, Saeed.F, Javed.M, Afzal.A, Ashfaq.I, Al Jbawi. E, Shamaail A. Saewan** (2022) Traditional and innovative approaches for the extraction of bioactive compounds, *International Journal of Food Properties*, 25:1, 1215-1233.
- [50] **Abe.E, Delye .S.G, Claude Alvarez. J** (2010) Liquid-liquid extraction: theory, applications and difficulties, *Annales Toxicologie Analytique*. 22(2): 51-59.
- [51] **Routray. W, Orsat. V** (2013). Preparative Extraction and Separation of Phenolic Compounds. In: Ramawat, K., Mérillon, JM. (Eds) *Natural Products*. Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-22144-6_55.
- [52] **Destandau, E., Michel, T., & Elfakir, C.** (2013) CHAPTER 4. Microwave-assisted Extraction. *Natural Product Extraction*, 113–156. Doi: 10.1039/9781849737579-00113
- [53] **Alam.A, Sarker.Z.I, Ghafoor.K, Akter Happy.R, Ferdosh. S** (2017) Bioactive Compounds and Extraction Techniques, *Recovering Bioactive Compounds from Agricultural Wastes*.Chap2. P33-50.

Références bibliographiques

- [54] **Wong-Paz .J.E, Diana B, Márquez.M, Aguilar-Zárate .P, Ascacio-Valdés .J.A, Cruz .K, Reyes-Luna .C, Rodríguez .R, Aguilar .C.N** (2017) Extraction of Bioactive Phenolic Compounds by Alternative Technologies, *Ingredients Extraction by Physicochemical Methods in Food*.Chap5, P229-252.
- [55] **Alara.O.R, Hamid Abdurahman. N, Chinonso Ishamel. U** (2021). Extraction of phenolic compounds. *Current Research in Food Science*, N°4, 200-214.
- [56] **Osorio-Tobón, J. F.** (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. *Journal of Food Science and Technology*. P 1-17.
- [57] **Gupta .A, Naraniwal .M , Kothari.V** (2012) Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts, *International Journal of Applied and Natural Sciences (IJANS)*Vol.1, 8-26
- [58] **Visnjevec .A.M, Barp. L , Lucci .P, Moret . S** (2024) Pressurized liquid extraction for the determination of bioactive compounds in plants with emphasis on phenolic, *Trends in Analytical Chemistry* 173, p117-620.
- [59] **Koçak.E, Pazır.F** (2018) Effect of Extraction Methods on Bioactive Compounds of Plant Origin, *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology*, 6(6): 663-675.
- [60] **Nguyen, T.L., Ora, A., Häkkinen, S.T. et al.** (2023) Innovative extraction technologies of bioactive compounds from plant by-products for textile colorants and antimicrobial agents. *Biomass Conversion and Biorefnery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-023-04726-4>.
- [61] **Kumari, B., Tiwari, B. K., Hossain, M. B., Brunton, N. P., & Rai, D. K.** (2017). Recent Advances on Application of Ultrasound and Pulsed Electric Field Technologies in the Extraction of Bioactives from Agro-Industrial By-products. *Food and Bioprocess Technology*, 11(2), 223–241.
- [62] **Pena-Pereira, F., Lavilla, I., & Bendicho, C.** (2009). Miniaturized preconcentration methods based on liquid–liquid extraction and their application in inorganic ultratrace analysis and speciation: A review. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 64(1), 1–15.

Références bibliographiques

[63] **Zgoła-Grześkowiak, A., & Grześkowiak, T.** (2011). Dispersive liquid-liquid microextraction. *Trends in Analytical Chemistry*, 30(9), 1382–1399.

[64] **Kocúrová, L, Balogh,I.S, Andruch.V**(2013) Solvent microextraction: A review of recent efforts at automation, *Microchemical Journal* 110, p 599–607.

[65] **Gwendolyn .H** (2014), *Microsystèmes séparatifs pour l'extraction liquide-liquide des radioéléments dans les protocoles d'analyse*. Thèse de doctorat de Chimie Analytique, Université Pierre et Marie Curie, Paris. P 21-263.

[66] **Almeida, J. M. F. D., Silva, E. M. F., Veríssimo.L.M, & Fernandes, N. S.** (2019). Salting-out assisted liquid-liquid extraction method combined with GC-MS for the determination of topiramate in aqueous solutions: development and application of the methodology. *Separation Science and Technology*.P1-11.

[67] **Yong .T, Weng. N** (2013) Salting-out assisted liquid–liquid extraction for bioanalysis, *Bioanalysis* 5(12), 1583–1598.

[68] **Zhigang, T., Rongqi, Z., & Zhanting, D.** (2001). Separation of isopropanol from aqueous solution by salting-out extraction. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 76(7), 757–763.

[69] **ZHOU. J K, PENG. J, LONG.k** (2010) Determination of Three Phenolic Compounds in Water Using Salting-out Phase Separation Microextraction Combined Liquid Chromatography, 978-1, P4244-4713.

[70] **G. Sas, O.; Domínguez, Á.; González, B.** (2023) Cleaning Phenolic Compounds Present in Water Using Salting-Out Effect with DCA-Based Ionic Liquids. *Applied Sciences*.13, 2009.

[71] **Farajzadeh, M. A., Sheykhizadeh, S., & Khorram, P.** (2013). Salting-out homogeneous liquid-liquid extraction in narrow-bore tube: Extraction and preconcentration of phthalate esters from water. *Journal of Separation Science*, 36(5), 939–946.

[72] **Spietelun, A., Kloskowski, A., Chrzanowski, W., Namieśnik, J.** (2012). Understanding Solid-Phase Microextraction: Key Factors Influencing the Extraction Process and Trends in Improving the Technique. *Chemical Reviews*, 113(3), 1667–1685.

Références bibliographiques

[73] **Ikawa, M., Schaper, T. D., Dollard, C. A., & Sasner, J. J. (2003).** Utilization of Folin–Ciocalteu Phenol Reagent for the Detection of Certain Nitrogen Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1811–1815.

[74] **Xu et al (2008)** Méthode développée au laboratoire de recherche de botanique de l'université Del Salento de LECCE en Italie.

[75] **Bahorun, T., Gressier B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., Vasseur, J., Cazin, M., Cazin, J.C., Pinkas, M. (1996).** Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arznei. Forschung*, 46, 1086- 1089.

[76] **Hamadou Habibou .H, Idrissa .M, Ikhiri Kh, Benjamin .O, Rabani .A(2019)** Activité Antioxydante des Extraits Méthanoliques de Différents Organes de *Detarium microcarpum* Guill. & Perr, *European Scientific Journal* edition Vol.15, No.12 ISSN: 1857 – 7881 (Print) e- ISSN 1857- 7431.

[77] **BLOIS, M. S. (1958).** Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. *Nature*, 181(4617), 1199–1200.

[78] **Bettaieb Rebey.I, Sriti.J, Besbess.B, Mkaddmini Hammi.K, Hamrouni.S.I, Marzouk.B, Ksouri. R (2016)** Effet de la provenance et du solvant d'extraction sur la teneur en composés phénoliques et les potentialités antioxydants des graines de fenouil (*Foeniculum vulgare* Mill.), *Volume 27(4)*, 2286-5314.

[79] **Ilaiyaraja, N., Likhith, K. R., Sharath Babu, G. R., & Khanum, F. (2015).** Optimisation of extraction of bioactive compounds from *Feronia limonia* (wood apple) fruit using response surface methodology (RSM). *Food Chemistry*, 173, 348–354.

[80] **Fan, J., Fan, Y., Pei, Y., Wu, K., Wang, J., & Fan, M. (2008).** Solvent extraction of selected endocrine-disrupting phenols using ionic liquids. *Separation and Purification Technology*, 61(3), 324–331.

[81] **Mokrani. A, Madani.K (2016).** Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit, *Separation and Purification Technology*.

Références bibliographiques

[82] **Gan, C.-Y., & Latiff, A. A.** (2011) Optimisation of the solvent extraction of bioactive compounds from *Parkia speciosa* pod using response surface methodology. *Food Chemistry*, 124(3), 1277–1283.

[83] **Amarowicz R, Estrella I, Hernandez T, Robredo S, Troszynska A, Kosinska A, Pegg R.**(2010) Free radicals-scavenging capacity: antioxidant activity and phenolic composition of green lentil (*Lens culinaris*); *Food Chemistry* 121; Ed: ELSEVIER.705-711.

Annexes

Annexes1 : Courbes d'étalonnages utilisées.

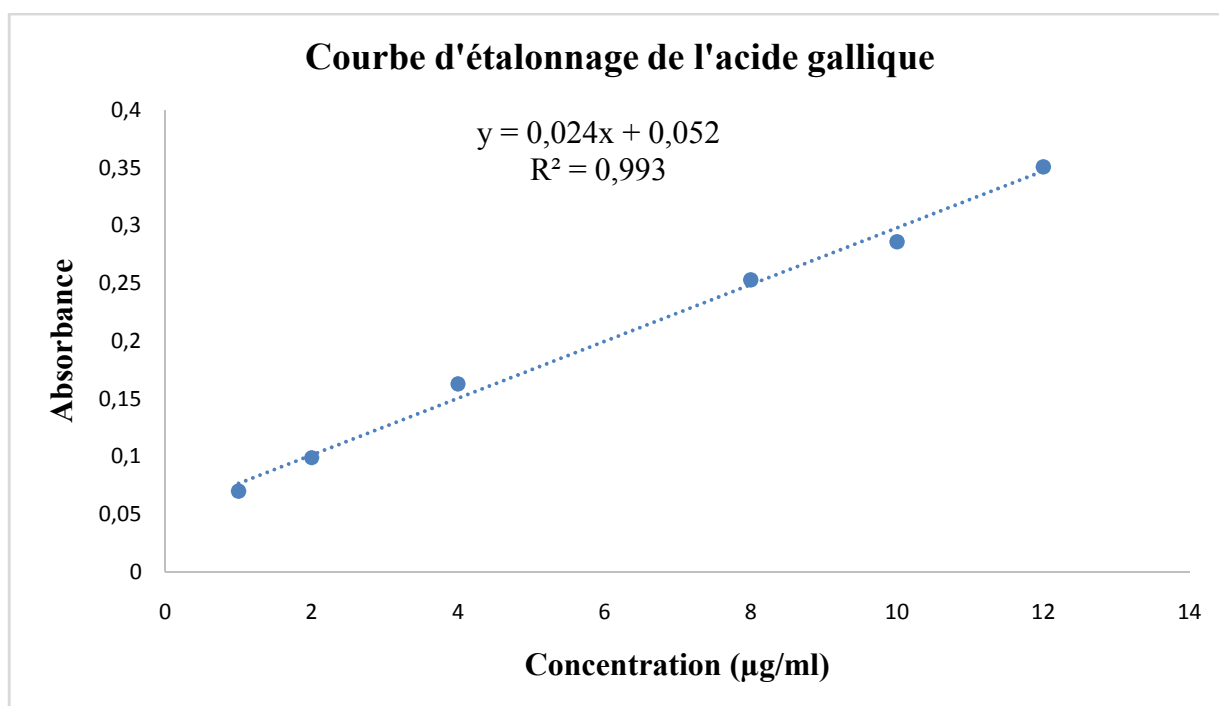


Figure 1 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique pour le dosage des composés phénolique.

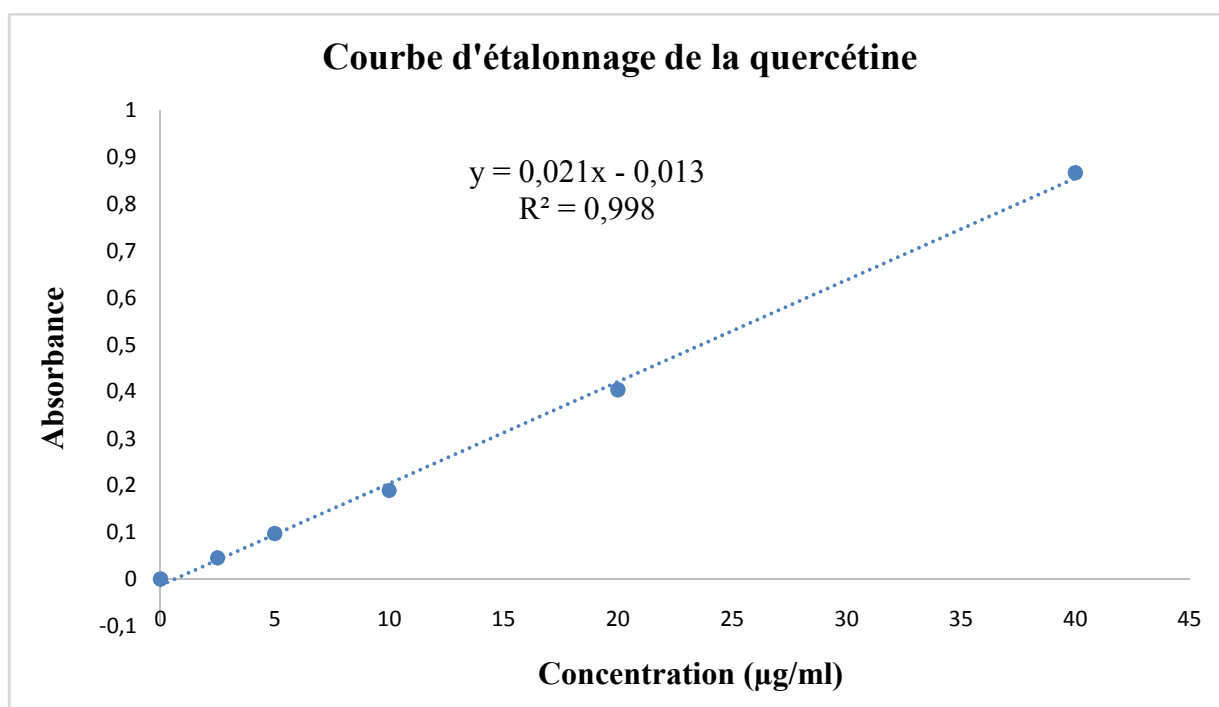


Figure 2 : Courbe d'étalonnage de la quercétine pour le dosage des flavonoïdes.

Résumé

L'objectif principal de cette étude originale est d'optimiser les conditions d'extraction des composés phénoliques totaux (CPT) et des flavonoïdes totaux (FT) à partir des graines de tomate en utilisant une combinaison d'une extraction liquide-liquide par salting out associée à l'extraction solide liquide. Les conditions optimales identifiées pour obtenir un rendement optimal en CPT et FT comprennent l'utilisation d'éthanol comme solvant d'extraction, un volume de solvant de 2 ml, une quantité de sulfate d'ammonium de 1,7 g, un volume de 85µl de HCl, un temps d'extraction de 90 minutes et une température d'extraction de 40°C. Les résultats indiquent que cette méthode d'extraction est très appropriée pour extraire les composés phénoliques, et montrant ainsi les fortes teneurs en polyphénols et des activités antioxydants très élevées. Les résultats suggèrent ainsi que les graines de tomate pourraient constituer une source naturelle d'antioxydants. Ces extraits naturels pourraient potentiellement être utilisés comme additifs alimentaires en remplacement des composés synthétiques.

Mots clés: Optimisation, Extraction solide liquide, extraction liquide-liquide par salting out, Activité antioxydant.

ملخص

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة الأصلية هو تحسين ظروف استخلاص المركبات الفينولية الكلية (TPC) الفلافونويدات الكلية (TF) من بذور الطماطم باستخدام مزيج من استخلاص التملح السائل المرتبط باستخلاص السائل الصلب. تشمل الظروف المثالية التي تم تحديدها للحصول على العائد الأمثل من CPT و FT استخدام الإيثانول كمذيب للاستخلاص، وحجم مذيب قدره 2 مل، وكمية من كبريتات الأمونيوم تبلغ 1.7 جم، و 85 ميكرو لتر من حمض الهيدروكلوريك، ووقت استخلاص قدره 90 دقائق ودرجة حرارة الاستخراج 40 درجة مئوية. تشير النتائج إلى أن طريقة الاستخلاص هذه مناسبة جداً لاستخلاص المركبات الفينولية، وبالتالي تظهر محتويات عالية من البوليفينول وأنشطة مضادة للأكسدة عالية جداً. وبالتالي تشير النتائج إلى أن بذور الطماطم يمكن أن تشكل مصدراً طبيعياً لمضادات الأكسدة. ومن الممكن استخدام هذه المستخلصات الطبيعية كمضافات غذائية لتحل محل المركبات الاصطناعية.

الكلمات المفتاحية: التحسين، استخلاص السوائل الصلبة، استخلاص السوائل السائلة بالتمليح، نشاط مضادات الأكسدة.

Abstract

The main objective of this original study is to optimize the extraction conditions of total phenolic compounds (TPC) and total flavonoids (TF) from tomato seeds using a combination of liquid salting out extraction. Associated with solid liquid extraction. The optimal conditions identified to obtain optimal yield of CPT and FT include the use of ethanol as extraction solvent, a solvent volume of 2 ml, an amount of ammonium sulfate of 1.7 g, a volume of 85µl of HCl, an extraction time of 90 minutes and an extraction temperature of 40°C. The results indicate that this extraction method is very suitable for extracting phenolic compounds, thus showing high polyphenol contents and very high antioxidant activities. The results thus suggest that tomato seeds could constitute a natural source of antioxidants. These natural extracts could potentially be used as food additives to replace synthetic compounds.

Keywords: Optimization, Solid liquid extraction, Liquid-liquid extraction by salting out, Antioxidant activity.