

Modélisation et optimisation avec Scilab de l'extraction de polyphénols de *Tridax procumbens*

Kouwelton Patrick Franck Olivier KONE*, Jean-Claude N'guessan YAO,
Esaïe Kouadio Appiah KOUASSI, Helena Awa EHUENY, Yaya SORO et Sorho SIAKA

Institut National Polytechnique Felix HOUPHOUËT BOIGNY, Département de Formation et de Recherche Génie Chimique et Agro-Alimentaire (DFR-GCAA), Laboratoire des Procédés Industriels et de Synthèses, de l'Environnement et des Energies Nouvelles (LAPISEN), BP 1313, Yamoussoukro, Côte d'Ivoire

(Reçu le 12 Mars 2020 ; Accepté le 23 Août 2021)

* Correspondance, courriel : kouwelton.kone@inphb.ci

Résumé

L'objectif de la présente étude est d'optimiser l'extraction des polyphénols dans la plante *Tridax Procumbens*. Il s'agissait de déterminer les facteurs influençant de manière pertinente les rendements d'extraction solide-liquide et liquide-liquide, et la concentration en polyphénols puis de trouver la combinaison optimale de ces facteurs qui pourra maximiser le rendement. Pour cela, la méthode de plan d'expériences selon Plackett et Burman a été utilisée. Celle-ci a permis d'identifier les facteurs significatifs que sont le nombre de siphonage, le rapport volume phase organique sur volume phase aqueuse et le rapport volume éthanol sur masse de broyat. Un code informatique a été écrit à l'aide du logiciel Scilab. Cela a permis de trouver les valeurs optimales pour chacun des facteurs ainsi que le résultat maximal. Il faut noter aussi que cette optimisation a été réalisée selon la méthode de l'algorithme génétique. Une validation des modèles obtenus est à envisager ainsi qu'une modélisation en plan factoriel complet pour regarder les effets des interactions entre les facteurs significatifs.

Mots-clés : *Polyphénols, Tridax procumbens, plan d'expérience, optimisation, Algorithme génétique.*

Abstract

Modelling and optimization with Scilab of the polyphenol extraction of *Tridax procumbens*

The objective of this study is to optimize the extraction of polyphenols from the *Tridax Procumbens* plant. It was a question of determining the factors influencing in a relevant way the yields of solid-liquid and liquid-liquid extraction, and the concentration in polyphenols then to find the optimal combination of these factors which will be able to maximize the yield. For this, the experiment plan method according to Plackett and Burman was used. This made it possible to identify the significant factors such as the number of siphoning, the volume ratio of organic phase to volume of aqueous phase and the ratio of ethanol volume to mass of ground material. Computer code has been written using Scilab software. This made it possible to find the optimal values for each of the factors as well as the maximum result. It should also be noted that this optimization was carried out according to the method of the genetic algorithm. A validation of the models obtained is to be considered as well as a modelling in full factorial plan to look at the effects of the interactions between the significant factors.

Keywords : *Polyphenols, Tridax procumbens, experimental design, optimization, Genetic algorithm.*

1. Introduction

Les plantes médicinales sont des plantes utilisées pour leurs vertus thérapeutiques. L'utilisation de ces plantes remonte à des milliers d'années où l'homme utilisait directement les plantes pour se soigner. Il existerait des centaines de milliers d'espèces différentes pouvant être récoltées et utilisées pour guérir de diverses maladies. Parmi ces plantes, se distingue la plante *Tridax procumbens* de la famille des astéracées que l'on retrouve partout dans le monde notamment aux abords des routes et dans les jardins. *Tridax procumbens* joue les rôles d'antivirale, d'antibiotique, de cicatrisante, d'insecticide et d'anti-inflammatoire [1 - 3]. A l'origine de ces propriétés médicinales se trouvent les métabolites secondaires comme par exemple, les composés phénoliques contenus dans la plante [4, 5]. L'une des étapes importantes à la préparation des médicaments est la détection des molécules d'intérêt dans le matériel végétal. Pour cela, l'on utilise les méthodes de chromatographie et de spectroscopie. L'étape de l'extraction des composés est vitale. Pour libérer ces composés et profiter de leurs vertus, la médecine traditionnelle utilise le broyage (mécanique voire rudimentaire) et ou à la préparation en effusion [6, 7]. Cependant, ces méthodes ne permettent pas d'obtenir des rendements satisfaisants ayant souvent pour cause la non maîtrise de certains paramètres tels que le temps d'extraction, la quantité de matière utilisée et le volume de solvant à ajouter. Il convient alors de les étudier et les optimiser. Ce processus d'amélioration consiste à identifier les principaux facteurs qui régissent les rendements. Les combinaisons adéquates de ces facteurs ainsi déterminées pourront accroître le taux d'extraction, et ainsi, optimiser le processus d'extraction. L'objectif général de la présente étude est l'optimisation de l'extraction de polyphénols de la plante *Tridax procumbens*. Pour atteindre cet objectif, un plan de criblage (plan d'expériences selon Plackett et Burman) a d'abord été utilisé pour l'identification des facteurs significatifs. Ensuite un script informatique a été écrit selon la méthode de l'algorithme génétique à l'aide du logiciel Scilab (version 6.0.2). Enfin une validation des modèles obtenus a été réalisée ainsi qu'une modélisation en plan factoriel complet donnant les effets des interactions entre les facteurs significatifs.

2. Matériel et méthodes

2-1. Récolte de la matière végétale

La récolte de la plante de *Tridax procumbens* a été effectuée dans l'enceinte de l'Institut National Polytechnique Felix HOUPHOUËT- BOIGNY de Yamoussoukro. L'organe recueilli est la plante entière (des feuilles aux racines).

2-2. Extraction des métabolites secondaires

Le procédé choisi est basé sur une extraction solide-liquide au Soxhlet avec un solvant hydroalcoolique (70 % v/v d'éthanol) suivi d'un lavage de l'extrait obtenu par l'hexane (qualité de l'hexane) par une extraction liquide-liquide. La phase aqueuse contenant nos polyphénols est dosée par spectrophotométrie UV-Visible. Toute cette méthodologie suit un plan d'expérience de Plackett-Burman pour pouvoir cribler, modéliser puis optimiser le rendement d'extraction.

2-3. Inventaire des facteurs et des réponses

Les facteurs et leurs domaines d'étude qui ont été recensés sont consignés dans le **Tableau 1**. Ils sont au nombre de cinq (5). Les réponses observées sont le rendement de l'extraction solide-liquide, le rendement de l'extraction liquide-liquide et la concentration en polyphénols de l'extrait liquide-liquide.

Tableau 1 : Facteurs influençant l'extraction des polyphénols et le domaine de validation

Facteurs	Niveau haut (+1)	Niveau bas (-1)
Mode de séchage	Étuve	Air libre
Rapport Volume de solvant sur masse de broyat	20 mL/g	10 mL/g
Nombre de siphonnage	2	5
Rapport des volumes phase aqueuse sur phase organique	1	1/3
Nombre de division de la phase aqueuse	2	4

Deux facteurs fictifs ont été ajoutés pour porter le nombre de facteurs a sept (7) pour qu'il soit de la forme $4n - 1, n \in \mathbb{N}^*$. X_n représente les facteurs réels et F_n représente les facteurs fictifs. Les tests sont au nombre de huit et sont numérotés de E01 à E08. Le

Tableau 2 présente les expériences à faire.

Tableau 2 : Tableau des expériences

Test	Mode de séchage	Masse de broyat	Nombre de siphonnage	Volume de la phase aqueuse	Nombre de division de la phase aqueuse	Volume de la phase aqueuse divisée
E01	Étuve	5 g	5	50 mL	2	25 mL
E02	Air libre	5 g	5	50 mL	4	12,5 mL
E03	Air libre	10 g	5	50 mL	4	12,5 mL
E04	Air libre	10 g	2	50 mL	4	12,5 mL
E05	Étuve	10 g	2	150 mL	4	37,5 mL
E06	Étuve	5 g	2	150 mL	2	75 mL
E07	Étuve	5 g	5	150 mL	2	75 mL
E08	Air libre	10 g	2	150 mL	2	75 mL

2-4. Mode opératoire

2-4-1. Séchage

La matière végétale est séchée selon deux voies : soit par un séchage à l'air libre, la matière est étalée dans une salle à l'abri des rayons solaires à la température de la salle (entre 25 °C et 30 °C en juillet 2019 à Yamoussoukro selon la SODEXAM) pendant deux semaines ; soit par un séchage avec une étuve : la matière est introduite dans une étuve à air convectif et la température est fixée à 40 °C pendant deux semaines. Une fois séchée, la matière végétale est broyée en une fine poudre (granulométrie inférieure à 2 mm).

2-4-2. Extraction solide-liquide

Lors de la manipulation, un montage d'extraction au Soxhlet a été réalisé avec un ballon de capacité 500 mL, un Soxhlet de 100 mL et un réfrigérant. Pour débiter l'extraction, une masse X_2 de broyat a été pesée. Cette masse était soit égale à 10 g soit égale à 20 g en fonction de l'expérience. Cette masse a été introduite dans une cartouche, puis l'ensemble cartouche et broyat a été pesé. Ensuite, 200 mL d'éthanol, qui représente notre solvant, ont été introduit dans le ballon de 500 mL pour l'extraction au Soxhlet. En fonction de l'expérience pour le plan d'expérience, l'extraction a été stoppée soit après 2 siphonnages soit après 5 siphonnages. Suite à l'arrêt du dispositif d'extraction, le ballon de 500 mL est mis à l'évaporateur rotatif à une température de 80 °C.

Après l'évaporation, le concentré obtenu est récupéré. La cartouche ayant servi à l'extraction est récupérée, puis séchée à l'étuve. Après séchage, la cartouche est pesée en vue de calculer le rendement à l'issue de l'extraction solide-liquide. Le rendement se calcule comme suit :

$$\text{Rendement} = \frac{M_i - M_f}{M_b} \quad (1)$$

avec, M_i : la masse initiale de la cartouche avec le broyat (en g) ; M_f : la masse après séchage de la cartouche avec le broyat (en g) ; M_b : la masse du broyat (en g).

2-4-3. Extraction liquide-liquide

À la suite de l'extraction solide-liquide, l'extrait issu de cette extraction est utilisé pour réaliser l'extraction liquide-liquide. L'extrait est mélangé à un volume X_3 soit égale à 150 mL soit égale à 50 mL d'eau distillée dans un bécher. Dans une ampoule de 500 mL sont introduits 150 mL d'hexane, qui représente notre solvant organique. Puis le mélange aqueux obtenu est divisé (extrait + eau distillée) en 2 échantillons ou en 4 échantillons de même volume en fonction de l'expérience. Puis un échantillon du mélange aqueux est ajouté à l'hexane dans l'ampoule à décanter. La phase aqueuse et la phase organique sont mélangées puis le mélange est décanté. Après observation de phases distinctes, les phases sont séparées. Puis, les deux extraits (phase aqueuse et phase organique) sont concentrés à l'évaporateur rotatif. Enfin les différents concentrés sont pesés pour déterminer les rendements après l'extraction liquide-liquide.

2-4-4. Dosage au spectrophotomètre UV-Visible

D'abord, les échantillons ont été dilués au 1/10 du fait de leurs concentrations élevées. Pour les diluer, 200 μ l ont été prélevés de notre extrait auquel nous avons ajouté 2 mL d'eau distillée. Après obtention de nos solutions diluées pour chaque échantillon, 30 μ l de notre solution diluée au 1/10 ont été prélevés et mis dans un tube à essai. Puis 2,5 mL de réactif de FOLIN y ont été ajoutés. Ensuite, le tube à essai a été laissé incubé et son contenu à l'obscurité pendant 3min. Après incubation, nous avons ajouté 2 mL de carbonate de sodium à 75 g/L. Ensuite, le tube à essai a été mis dans un bain-marie à 50 °C pendant 15 min. Toutes les opérations réalisées pour l'échantillon dans le tube à essai ont été réalisées 3 fois. Un échantillon témoin (échantillon blanc) a été préparé en prenant comme extrait de l'eau distillée. Enfin, la lecture au spectrophotomètre a été réalisée à 760 nm pour pouvoir connaître les concentrations en polyphénols des extraits à l'aide d'une courbe d'étalonnage présente dans la machine.

2-4-5. Code Scilab du plan d'expérience et optimisation

Le programme que nous avons écrit fonctionne en suivant la méthode de plan d'expériences selon Plackett et Burman. Tout d'abord, il demande le nombre de facteurs que nous avons estimés pour réaliser le plan d'expériences. Ensuite, il génère la matrice de Yates en ajoutant des facteurs fictifs si le nombre de facteurs entré n'est pas de la forme $(4k-1)$. Ensuite, il demande les niveaux haut et bas de chaque facteur, puis génère la matrice des expériences. Après cela, il demande les différents résultats, calcule les coefficients et recherche les facteurs significatifs à l'aide de la méthode de Pareto. Enfin, il calcule le coefficient de corrélation et dit si le modèle est précis ou pas. Dans ce même programme, après avoir obtenu les facteurs significatifs de notre plan d'expériences, nous réalisons une optimisation avec l'algorithme génétique des résultats en effectuant une maximisation avec les facteurs significatifs. Enfin, le programme nous ressort les valeurs optimales pour chacun des facteurs ainsi que le résultat maximal. Le nombre de générations a été fixé à 50 et la population à 1000 individus.

3. Résultats et discussion

3-1. Résultats

Les différentes expérimentations du plan d'expérience nous ont permis d'obtenir les résultats consignés dans le **Tableau 3**:

Tableau 3 : Résultats des expérimentations

EXPERIENCES	MS	Rsb	NS	Rao	ND	RDT Sol	RDT Liq	Conc (mg/L)
E01	Étuve	20	5	3	2	16,80 %	16,60 %	0,73
E02	Air libre	20	5	3	4	18,20 %	71,47 %	1,13
E03	Air libre	10	5	3	4	15,10 %	1,10 %	1,57
E04	Air libre	10	2	3	4	13,70 %	65,20 %	0,93
E05	Étuve	10	2	1	4	13,30 %	44,80 %	1,07
E06	Étuve	20	2	1	2	15,60 %	67,40 %	1,17
E07	Étuve	20	5	1	2	15,20 %	71,80 %	2,37
E08	Air libre	10	2	1	2	14,40 %	13,90 %	2,20

MS, le mode de séchage ; *Rsb*, le rapport entre le volume du Soxhlet et la masse du broyat ; *NS*, le nombre de siphonnages ; *Rao*, le rapport entre le volume de la phase aqueuse et celui de la phase organique ; *ND*, le nombre de divisions de la phase aqueuse pour l'extraction liquide-liquide ; *RDT Sol*, le rendement de l'extraction solide-liquide ; *RDT liq*, le rendement de l'extraction liquide-liquide ; et *Conc*, la concentration en polyphénols totaux.

3-1-1. Rendement de l'extraction solide-liquide

3-1-1-1. Modélisation

Les résultats obtenus montrent les influences des facteurs sur le phénomène étudié. Pour le mode de séchage, le maximum est atteint pour le séchage à l'air libre (E02, 18,70 %) tandis que le minimum est observé pour le séchage à l'étuve (E05, 13,30 %). La tendance générale montre que le mode de séchage à l'air et celui à l'étuve ont une influence similaire avec des moyennes de rendement respectivement de 15,35 % et 15,23 %, avec un léger penchant pour le mode de séchage à l'air libre (**Figure 1**). Pour le facteur *Rsb*, le maximum est atteint pour 20 mL/g alors que le minimum est observé à 10 mL/g. la tendance générale montre de meilleurs rendements avec un *Rsb* de 20 mL/g (16,45 % en moyenne) (**Figure 2**). Il apparait donc que des valeurs plus élevées de *Rsb* améliorent le rendement de l'extraction solide-liquide. Quant au facteur *NS*, le maximum est atteint pour 5 siphonnages et le minimum pour 2 siphonnages. Les expériences avec 5 siphonnages ont données de meilleurs rendements avec une moyenne de 16,33 % contre 14,25 % pour les rendements des expériences avec 2 siphonnages (**Figure 3**). Plus on fait de siphonnages, plus on extrait de métabolites secondaires.

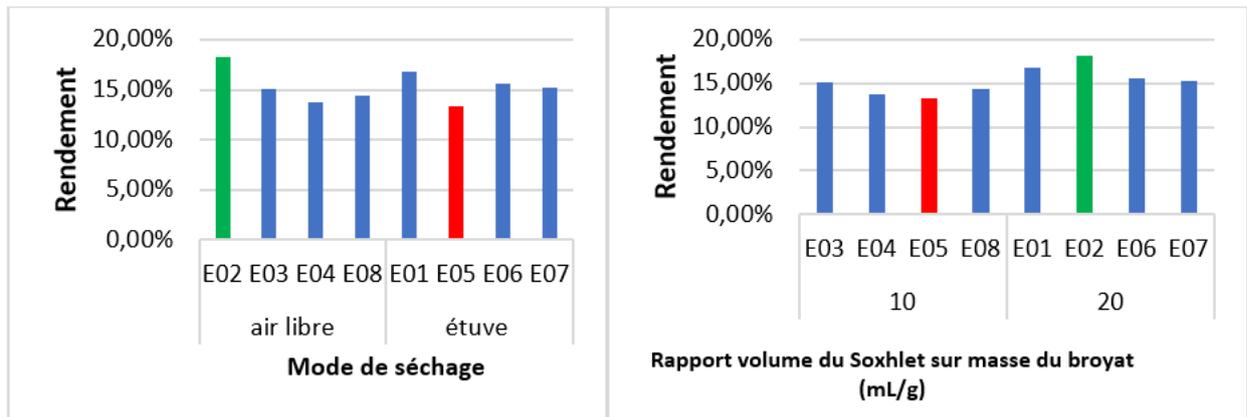


Figure 1 : Influence du mode de séchage sur le rendement d'extraction solide-liquide

Figure 2 : Influence du rapport entre le volume du Soxhlet et la masse du broyat sur le rendement d'extraction solide-liquide

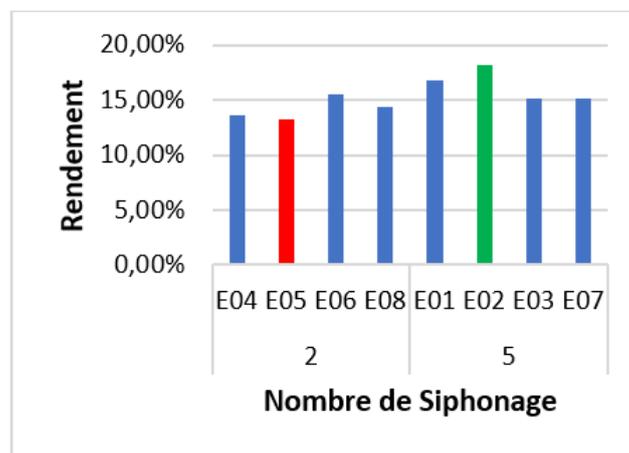


Figure 3 : Influence du nombre de siphonnage sur le rendement d'extraction solide-liquide

Les résultats de la modélisation pour la réponse « rendement solide-liquide » nous donne deux facteurs significatifs (MS et Rsb), que ce soit par la méthode de Pareto que de celle de l'erreur type (à partir du seuil de confiance de 80 % (**Tableau 4 et Tableau 5**)). Le coefficient de régression linéaire est de 0,9430 (Y_{calc1} , $R^2 = 0,8893$) et le coefficient de validation est de 91,08% (Y_{calc2} , $R^2 = 0,8296$) (**Figure 4**). La (**Figure 5**) montre le diagramme de Pareto des effets des facteurs. L'erreur type est calculée à partir des valeurs consignées dans le **Tableau 6**.

Tableau 4 : Résultats de la modélisation du rendement de l'extraction solide-liquide (méthode de l'erreur type)

Facteurs	Coefficients	Effets	95 %	90 %	85 %	80 %
Constante	0,152875	0,30575	OUI	OUI	OUI	OUI
MS	-0,00625	0,0125	---	---	---	OUI
Rsb	0,013875	0,02775	---	OUI	OUI	OUI
NS	0,0025	0,005	---	---	---	---
Rao	0,001875	0,00375	---	---	---	---
ND	0,00075	0,0015	---	---	---	---

Tableau 5 : Résultats de la modélisation du rendement de l'extraction liquide-liquide (méthode de Pareto)

Facteurs	Coeff	Effet	%	Effet cumul	% cumul	Significatif ?
Rsb	0,013875	0,02775	54,95 %	0,02775	54,95 %	OUI
MS	-0,00625	0,0125	24,75 %	0,04025	79,70 %	OUI
NS	0,0025	0,005	9,90 %	0,04525	89,60 %	---
Rao	0,001875	0,00375	7,43 %	0,049	97,03 %	---
ND	0,00075	0,0015	2,97 %	0,0505	100,00 %	---

Tableau 6 : Valeurs des facteurs fictifs pour le rendement de l'extraction solide-liquide

Seuil de confiance	95 %	90 %	85 %	80 %
Moyenne des effets des facteurs fictifs	0,01133333	0,01133333	0,01133333	0,01133333
Facteur de Student	2,91998558	1,88561808	1,38620656	1,06066017
Erreur expérimentale	0,03309317	0,02137034	0,01571034	0,01202082

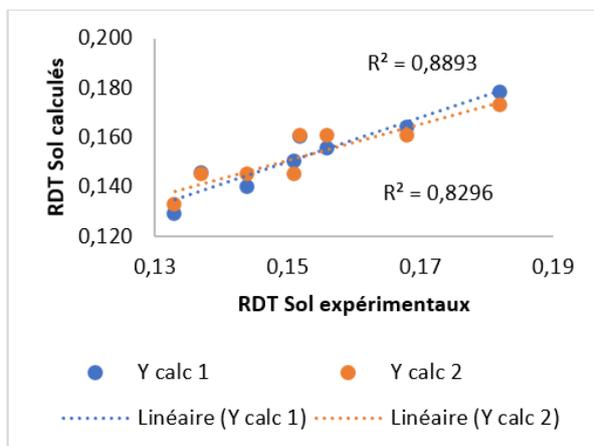


Figure 4 : Courbes de Régression et de validation du modèle du rendement solide-liquide

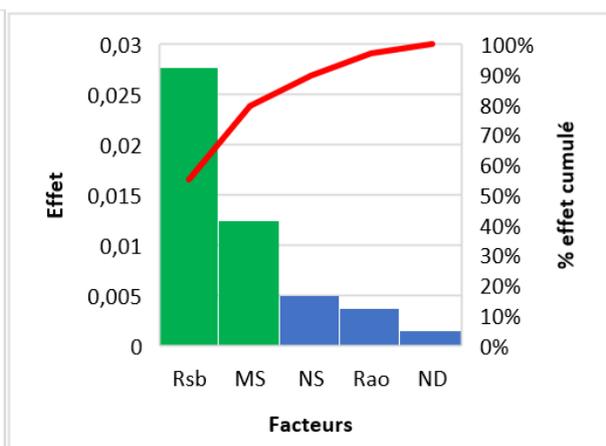


Figure 5 : Diagramme de Pareto de la modélisation du rendement d'extraction solide-liquide

Il résulte de cette étude que le rendement de l'extraction solide-liquide s'exprime de par **l'Équation (2)**:

$$RDT\ Sol = 0,1529 + 0,0139 \times Rsb - 0,0063 \times MS \tag{2}$$

3-1-1-2. Optimisation

L'optimisation a donné comme résultat que le rendement maximal est de 17,29 % avec comme valeurs optimales des facteurs une méthode de séchage à l'air libre et un rapport volume de Soxhlet sur masse de broyat de 19,98 mg/L. La moyenne des rendements croit tout au long des générations ; cela témoigne du bon fonctionnement de notre algorithme. On observe une stabilité puis un saut à la 34^{ème} génération puis une évolution jusqu'à la 41^{ème} génération pour enfin se stabiliser jusqu'à la dernière génération.

3-1-2. Rendement de l'extraction liquide-liquide

3-1-2-1. Modélisation

Les résultats obtenus montrent les influences des facteurs sur le phénomène étudié. Pour le mode de séchage, le maximum est atteint pour le séchage à l'étuve (E07, 71,80 %) tandis que le minimum est observé pour le séchage à l'air libre (E03, 1,10 %). La tendance générale montre que le mode de séchage à l'étuve donne de meilleurs résultats avec 50,15 % en moyenne que le séchage à l'air libre qui donne en moyenne 37,92 % (Figure 6). Pour le facteur Rao, le maximum est atteint pour 1 mL/mL alors que le minimum est observé à 3 mL/mL. La tendance générale montre de meilleurs rendements avec un Rao de 1 mL/mL (49,48 % en moyenne) (Figure 7). Il apparaît donc que des valeurs moins élevées de Rao améliorent le rendement de l'extraction liquide-liquide. Quant au facteur ND, le maximum est atteint pour 2 divisions et le minimum pour 4 divisions. Pourtant, la tendance générale (moyenne) est que les expériences avec 4 divisions ont donné de meilleurs rendements avec une moyenne de 45,64 % contre 42,64 % pour les rendements des expériences avec 2 divisions (Figure 8). Plus on fait de divisions de la phase aqueuse, on extrait de métabolites secondaires.

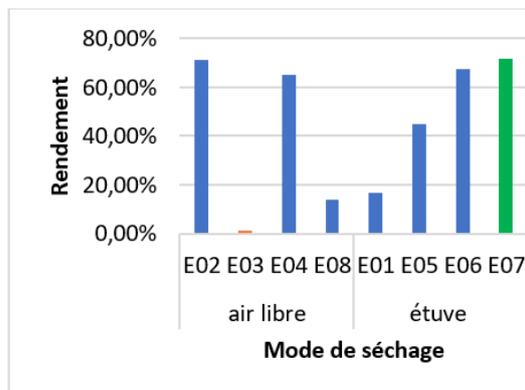


Figure 6 : Influence du mode de séchage sur le rendement d'extraction liquide-liquide

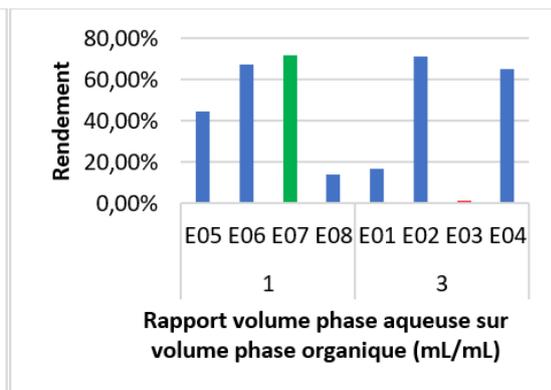


Figure 7 : Influence du rapport entre le volume de la phase aqueuse et celui de la phase organique sur le rendement d'extraction liquide-liquide

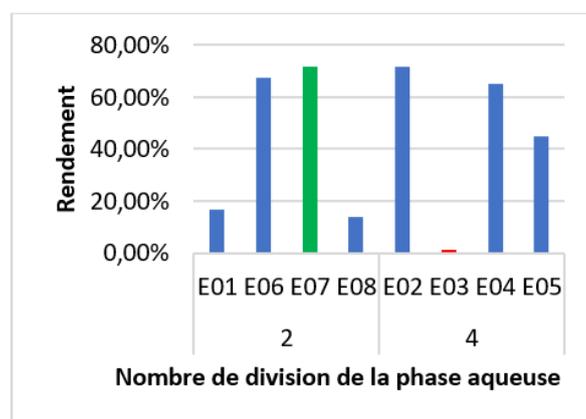


Figure 8 : Influence de nombre de division de la phase aqueuse sur le rendement d'extraction liquide-liquide

Les résultats de la modélisation pour la réponse « rendement liquide-liquide » nous donne deux facteurs significatifs (ND et Rsb) par la méthode de l'erreur type (à partir du seuil de confiance de 80 %, voir **Tableau 7**) ; tandis que la méthode de Pareto nous donne trois facteurs significatifs (ND, Rsb et NS)

(Tableau 8). Le modèle avec tous les facteurs donne un coefficient de corrélation de 0,8565 (Y calc 1, $R^2 = 0,7336$) alors que le modèle avec les deux facteurs significatifs de la méthode de l'erreur type donne $R = 0,5742$ (Y calc 3, $R^2 = 0,3297$) et le modèle avec les trois facteurs significatifs de la méthode de Pareto donne $R = 0,7810$ (Y calc 2, $R^2 = 0,6099$) (Figure 9). La (Figure 10) montre le diagramme de Pareto des effets des facteurs. L'erreur type est calculée à partir des valeurs consignées dans le Tableau 9.

Tableau 7 : Résultats de la modélisation du rendement de l'extraction liquide-liquide par la méthode de l'erreur type

Facteurs	Coefficients	Effet	95 %	90 %	85 %	80 %
Constante	0,44033334	0,88066668	---	OUI	OUI	OUI
MS	-0,05993743	0,11987485	---	---	---	---
Rsb	0,33964576	0,67929153	---	OUI	OUI	OUI
NS	-0,14925	0,2985	---	---	---	---
Rao	-0,11697909	0,23395818	---	---	---	---
ND	0,21443743	0,42887485	---	---	---	OUI

Tableau 8 : Résultats de la modélisation du rendement de l'extraction liquide-liquide par la méthode de Pareto

Facteurs	Coeff	Effet	%	Effet cumul	%cumul	Significatif ?
Rsb	0,33964576	0,67929153	38,59 %	0,679291525	38,59 %	OUI
ND	0,21443743	0,42887485	24,36 %	1,108166375	62,95 %	OUI
NS	-0,14925	0,2985	16,96 %	1,406666375	79,90 %	OUI
Rao	-0,11697909	0,23395818	13,29 %	1,64062455	93,19 %	---
MS	-0,05993743	0,11987485	6,81 %	1,7604994	100,00 %	---

Tableau 9 : Calcul de l'erreur expérimentale de la modélisation du rendement liquide-liquide

Seuil de confiance	95 %	90 %	85 %	80 %
Moyenne des effets des facteurs fictifs	0,3535	0,3535	0,3535	0,3535
Facteur de Student	2,91998558	1,88561808	1,38620656	1,06066017
Erreur expérimentale	1,0322149	0,66656599	0,49002402	0,37494337

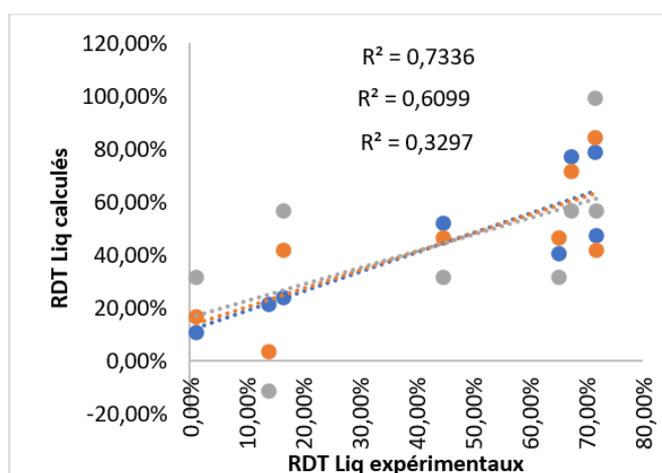


Figure 9 : Corrélation données calculés avec données expérimentales rendement liquide-liquide

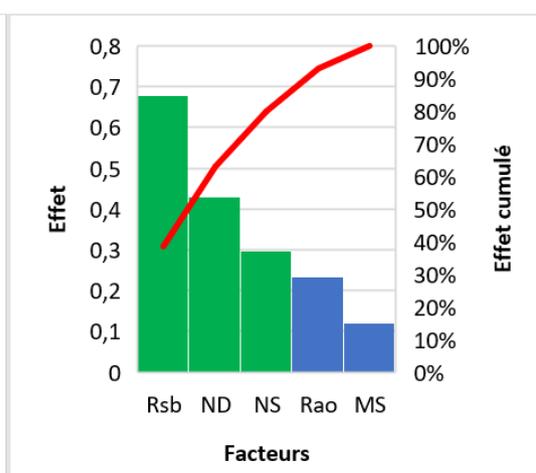


Figure 10 : Diagramme de Pareto de la modélisation du rendement liquide-liquide

Il en résulte que le rendement liquide-liquide peut s'écrire selon ***l'Équation (3)***:

$$RDT\ Liq = 0,4403 + 0,3396 \times R_{sb} + 0,2144 \times ND - 0,1493 \times NS \quad (3)$$

3-1-2-2. Optimisation

L'optimisation a donné comme résultat que le rendement maximal est de 100 % avec comme valeurs optimales, un rapport volume de Soxhlet sur masse de broyat de 19,55 mg/L, un nombre de division de la phase aqueuse de 4 et un nombre de siphonage de 2.

3-1-3. Concentration en polyphénols

3-1-3-1. Modélisation

Les résultats obtenus montrent les influences des facteurs sur le phénomène étudié. Pour le mode de séchage, le maximum et le minimum sont atteints pour le séchage à l'étuve (E07, 2,37 mg/L et E01, 0,73 mg/L). Cependant, la tendance générale montre que le mode de séchage à l'air libre donne de meilleurs résultats que celui à l'étuve avec des moyennes de concentrations respectivement de 1,46 mg/L et 1,33 mg/L (***Figure 11***).

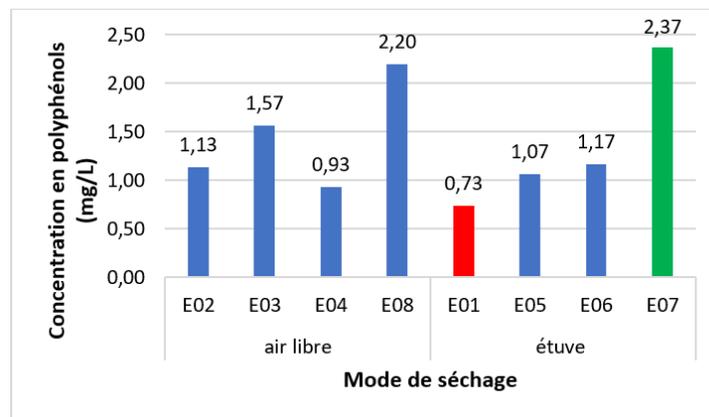


Figure 11 : Influence du mode de séchage sur la concentration en polyphénols

Pour le facteur Rsb, le maximum et le minimum sont atteints pour 20 mL/g. Cependant, la tendance générale montre de meilleurs rendements avec un Rsb de 10 mL/g (1,44 mg/L en moyenne) (***Figure 12***). Il apparaît donc que des valeurs moins élevées de Rsb améliorent le rendement de la concentration des polyphénols.

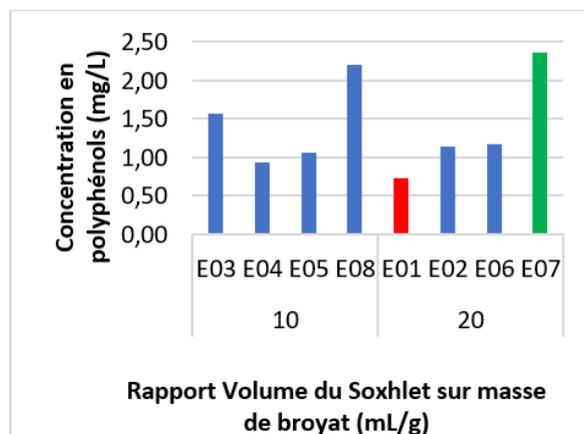


Figure 12 : Influence du rapport entre le volume du Soxhlet et la masse de broyat sur la concentration en polyphénols

Quant au facteur NS, le maximum et le minimum sont atteints pour 5 siphonnages. Les expériences avec 5 siphonnages ont données de meilleures concentrations avec une moyenne de 1,45 mg/L contre 1,34 mg/L pour les rendements des expériences avec 2 siphonnages (**Figure 13**). Plus on fait de siphonnages, mieux on concentre les polyphénols.

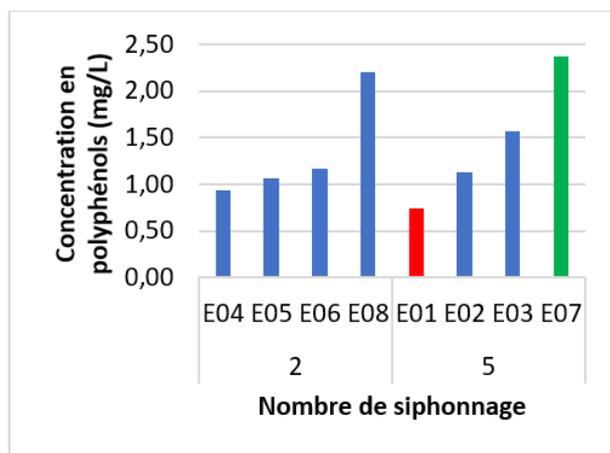


Figure 13 : *Influence du nombre de siphonnage sur la concentration en polyphénols*

Pour le facteur Rao, le maximum est atteint pour 1 mL/mL alors que le minimum est observé à 3 mL/mL. La tendance générale montre de meilleurs rendements avec un Rao de 1 mL/mL (1,70 mg/L en moyenne) (**Figure 14**). Il apparait donc que des valeurs moins élevées de Rao améliorent la concentration en polyphénols.

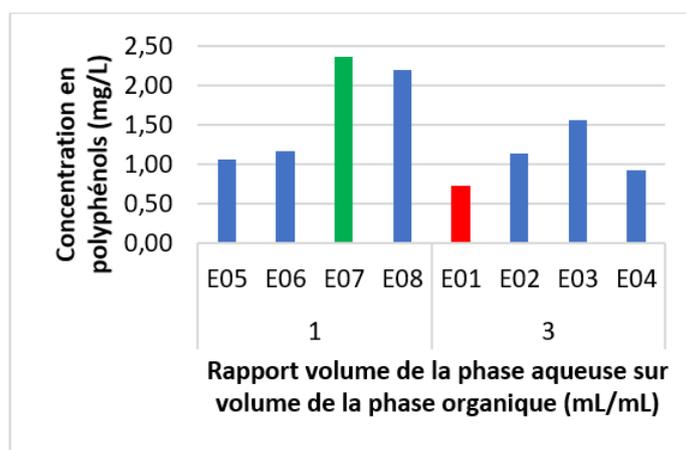


Figure 14 : *Influence du rapport entre les volumes de la phase aqueuse et de la phase organique sur la concentration en polyphénols*

Quant au facteur ND, le maximum et le minimum sont atteint pour 2 divisions. Pourtant, la tendance générale (moyenne) est que les expériences avec 2 divisions ont donnés de meilleures concentrations en polyphénols avec une moyenne de 1,62 mg/L contre 1,18 mg/L pour les rendements des expériences avec 4 divisions (**Figure 15**). Plus on fait de divisions de la phase aqueuse, moins on concentre les polyphénols.

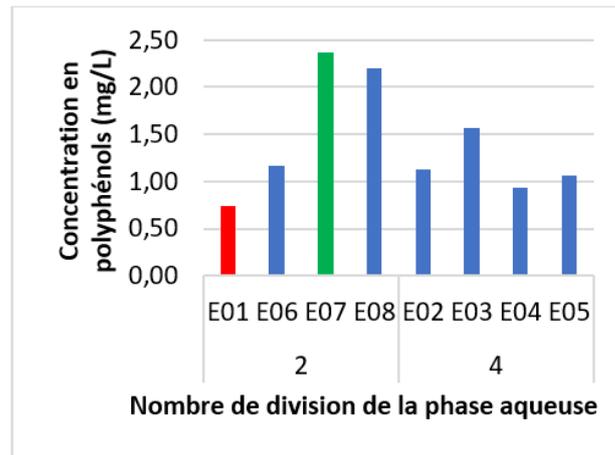


Figure 15 : Influence du nombre de divisions de la phase aqueuse sur la concentration en polyphénols

Les résultats de la modélisation pour la réponse « concentration en polyphénols » nous donne trois facteurs significatifs (Rao, NS et MS) par la méthode de l'erreur type (à partir du seuil de confiance de 90 %, voir **Tableau 10**) tout comme la méthode de Pareto (**Tableau 11**). Le modèle avec tous les facteurs donne un coefficient de corrélation de 0,9630 (Y calc 1, $R^2 = 0,9274$) alors que le modèle avec les trois facteurs significatifs donne $R = 0,9101$ (Y calc 2, $R^2 = 0,8284$) (**Figure 16**). La (**Figure 17**) montre le diagramme de Pareto des effets des facteurs. L'erreur type est calculée à partir des facteurs fictifs dont les détails sont consignés dans le **Tableau 12**.

Tableau 10 : Résultats de la modélisation de la concentration en polyphénols par la méthode de l'erreur type

Facteurs	Coefficients	Effet	95 %	90 %	85 %	80 %
Constante	1,39583333	2,79166667	OUI	OUI	OUI	OUI
MS	-0,38333333	0,76666667	---	OUI	OUI	OUI
Rsb	-0,175	0,35	---	---	---	---
NS	0,45833333	0,91666667	---	OUI	OUI	OUI
Rao	-0,63333333	1,26666667	OUI	OUI	OUI	OUI
ND	-0,18333333	0,36666667	---	---	---	---

Tableau 11 : Résultats de la modélisation de la concentration en polyphénols par la méthode de Pareto

Facteurs	Coeff	Effet	%	Effet cumul	% cumul	Significatif ?
Rao	-0,63333333	1,26666667	34,55 %	1,26666667	34,55 %	OUI
NS	0,45833333	0,91666667	25,00 %	2,18333333	59,55 %	OUI
MS	-0,38333333	0,76666667	20,91 %	2,95	80,45 %	OUI
ND	-0,18333333	0,36666667	10,00 %	3,31666667	90,45 %	---
Rsb	-0,175	0,35	9,55 %	3,66666667	100,00 %	---

Tableau 12 : Valeurs et données permettant de calculer l'erreur type de la modélisation de la concentration en polyphénols

Seuil de confiance	95 %	90 %	85 %	80 %
Moyenne des effets des facteurs fictifs	0,4	0,4	0,4	0,4
Facteur de Student	2,91998558	1,88561808	1,38620656	1,06066017
Erreur expérimentale	1,16799423	0,75424723	0,55448262	0,42426407

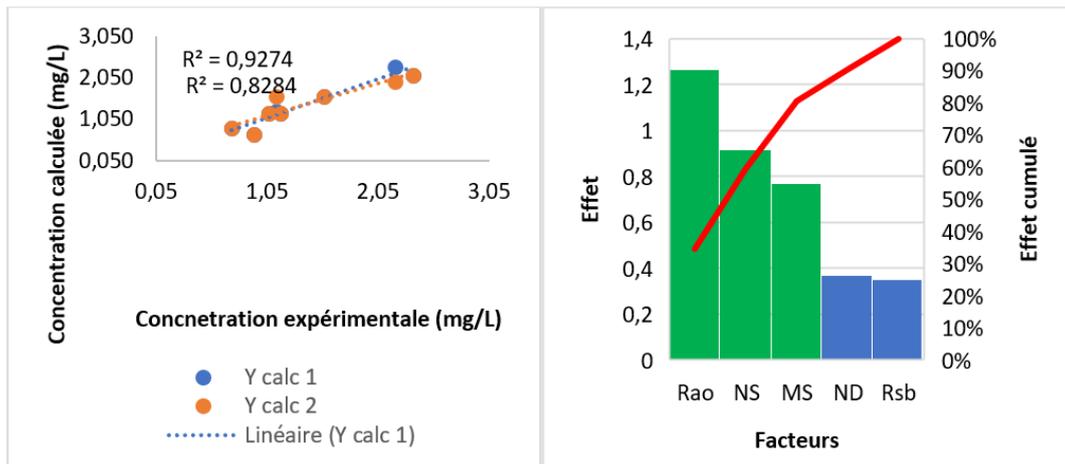


Figure 16 : Courbes de régression et de validation de la modélisation de la concentration en polyphénols

Figure 17 : Diagramme de Pareto de la modélisation de la concentration en polyphénols

Il en résulte que la concentration en polyphénols peut s'écrire selon ***l'Équation (4)***:

$$Conc = 1,3958 - 0,6333 \times Rao + 0,45833 \times NS - 0,3833 \times MS \tag{4}$$

3-1-3-2. Optimisation

L'optimisation a donné comme résultat que la concentration maximale est de 2,80 mg/L de polyphénols avec comme valeur optimale des facteurs, un volume de la phase aqueuse égale à celle de la phase organique, le nombre de siphonnage égale à 5 et une méthode de séchage à l'air libre.

3-2. Discussion

Les différentes expérimentations sur les rendements et la concentration en polyphénols nous donnent des enseignements par rapport à plusieurs facteurs : le mode de séchage, le rapport volume du Soxhlet sur la masse de broyat, le nombre de siphonnages, le rapport volume phase aqueuse sur volume phase organique, le facteur de division de la phase aqueuse dans l'extraction liquide-liquide.

3-2-1. Mode de séchage

Le mode de séchage influence le phénomène d'extraction des polyphénols, car la modélisation a montré qu'il est significatif au niveau du rendement solide-liquide et de la concentration en polyphénols. Il ressort de l'optimisation que le mode de séchage à l'air libre donne les meilleurs résultats pour le rendement solide-liquide et la concentration en polyphénols ; tandis que le mode de séchage à l'étuve est celui qui donne de meilleurs rendements liquide-liquide. Cette différence pourrait être due à la sélectivité du mode de séchage à l'étuve. En effet le séchage à l'étuve pourrait faciliter l'extraction de polyphénols, puisque l'extraction liquide-liquide a pour but de purifier l'extrait solide-liquide de toutes substances apolaires. Ces résultats sont similaires à ceux de plusieurs qui montre un effet significatif du séchage sur le rendement d'extraction comme les travaux de Kémajou en 2012, qui a montré que le séchage à l'air libre était meilleur pour l'extraction des alcaloïdes de plantes antipaludiques [8]. Quant à Dabiré en 2011, il a montré que le séchage modifie significativement la composition de l'huile essentielle des plantes et augmente le rendement des extraits alcoolique et aqueux [9].

3-2-2. Rapport volume du Soxhlet sur masse de broyat

Le rapport volume du Soxhlet sur la masse de broyat influence le phénomène d'extraction ; la modélisation a montré que ce facteur influe aussi bien sur le rendement solide-liquide que sur le rendement liquide-liquide. Cependant, si de grandes valeurs favorisent des rendements élevés au niveau de l'extraction solide-liquide, des valeurs faibles favorisent les rendements élevés au niveau de l'extraction liquide-liquide. Cela peut être dû au fait que dans l'extraction solide-liquide, plus le volume de solvant est en contact avec le broyat, mieux le transfert de métabolite s'effectue, et donc l'extraction est moins sélective que dans le cas où le ratio volume sur masse de broyat est plus faible, et donc les substances avec le plus d'affinité avec le solvant seront extraites en premier lieu. Ce phénomène a aussi été observé dans deux études portant sur une optimisation de l'extraction de composés polyphénoliques de *Foeniculum vulgare* et de *Ziziphus jujuba L* [10, 11].

3-2-3. Nombre de siphonnages

Quant au nombre de siphonnages dans l'extraction au Soxhlet, la modélisation a prouvé qu'il influence le rendement liquide-liquide et la concentration en polyphénols. Ce facteur est présent dans le modèle de ces deux observations. Des valeurs élevées du nombre de siphonnages favorisent de petites valeurs de rendement liquide-liquide alors que cela favorise de grandes valeurs de concentrations en polyphénols. Pour les mêmes raisons que pour le ratio volume de Soxhlet sur la masse de broyat, plus le nombre de siphonnages est élevé, plus l'extraction des métabolites est favorisée et la sélectivité est défavorisée. Plusieurs études antérieures sur l'extraction au Soxhlet de composés phénoliques vont dans le même sens comme les études de sur l'extraction de polyphénols de la plante *Equisetum arvense L* [12] et une autre étude sur les racines de la réglisse [13].

3-2-4. Rapport volume de la phase aqueuse sur volume de la phase organique

La modélisation de l'extraction a montré que le rapport volume de la phase aqueuse sur volume de la phase organique influence la concentration en polyphénols. Les plus grandes valeurs de concentrations sont obtenues avec de petites valeurs de ce ratio. Cela montre que plus le volume de la phase organique augmente, plus on débarrasse l'extrait de substances apolaires. On améliore donc la concentration en substances polaires, en polyphénols. Plusieurs études ont montré l'influence du solvant dans le rendement d'une extraction liquide-liquide. Une étude a montré que la nature du solvant pouvait influencer le rendement ; c'est le cas d'une extraction de polyphénols avec un mélange d'hydrocarbure issu du raffinage pétrolier ; l'auteur a ainsi montré qu'il existait une liaison hydrogène entre le solvant et le phénol des composés à extraire ce qui facilitait leur extraction [14].

3-2-5. Facteur de division de la phase aqueuse dans l'extraction liquide-liquide

La modélisation du rendement liquide-liquide a confirmé l'influence du facteur de division de la phase aqueuse. En effet, une séparation en plusieurs reprises, donne de meilleurs résultats qu'en une seule fois. Ce résultat est confirmé par la littérature qui donne la priorité à un processus où le solvant est renouvelé [15].

3-2-6. Etudes similaires

Plusieurs études antérieures ont montré la présence de composés polyphénoliques dans *Tridax procumbens*. Habila et collaborateurs ont déterminé la teneur en polyphénol total de l'extrait éthanolique de *Tridax procumbens* à hauteur de 12 mg/g de matière sèche [16]. Plusieurs autres études ont confirmés la présence de polyphénols dans cette plante en la liant à une activité antioxydante [17, 18]. D'autres types d'extraction ont aussi été réalisées, par exemple une extraction par la méthode des ultrasons, a montré que le ratio solvant et masse de broyat était un facteur déterminant [19].

4. Conclusion

Cette étude permet d'optimiser l'extraction de polyphénols dans la plante entière de *Tridax procumbens*. Pour cela un plan d'expérience de type Plackett et Burmann est utilisé pour modéliser cette extraction qui s'est faite en deux étapes : une extraction solide-liquide et une extraction liquide-liquide. Le modèle obtenu est optimisé à l'aide d'un algorithme génétique. Il ressort de cela que le séchage à l'air libre de la matière première et le volume de la phase organique supérieur à celui de la phase aqueuse dans l'extraction liquide-liquide contribuent à l'enrichissement de l'extrait hydroalcoolique en polyphénol. Cependant la nature linéaire du modèle obtenu ne permet pas de pousser plus loin l'optimisation du phénomène. Il serait donc intéressant de réaliser un plan d'expérience du type surface de réponse en vue d'améliorer la teneur en polyphénol dans les extraits. Cela serait un point important dans l'amélioration de l'activité antioxydante des médicaments traditionnels améliorés formulé à partir de *Tridax procumbens*.

Références

- [1] - Y. ANDRIANA, T. D. XUAN, T. N. QUY, T. N. MINH, T. M. VAN and T. D. VIET, "Antihyperuricemia, Antioxidant, and Antibacterial Activities of *Tridax procumbens* L.", *Foods*, Vol. 8, N° 1 (2019) 21 p.
- [2] - S. BECK, H. MATHISON, T. TODOROV, E.-A. CALDERON-JUAREZ and O. R. KOPP, "A Review of Medicinal Uses and Pharmacological Activities of *Tridax Procumbens* (L.)", *J. Plant Stud.*, Vol. 7, N° 1 (2018) 19 p.
- [3] - S. B. JHAMPLE, S. B. GAJDHANE, P. J. KASABE, P. K. BHAGWAT and P. B. DANDGE, "Phytochemical screening and in vitro antimicrobial activity of *Tridax procumbens* L.", *Res. J. Life Sci. Bioinforma. Pharm. Chem. Sci.*, Vol. 1, N° 1 (2015) 42 - 51
- [4] - R. CROTEAU, T. M. KUTCHAN and N. G. LEWIS, "Natural products (secondary metabolites)", *Biochem. Mol. Biol. Plants*, Vol. 24, (2000) 1250 - 1319
- [5] - A. CROZIER, M. N. CLIFFORD and H. ASHIHARA, "Plant secondary metabolites : occurrence, structure and role in the human diet", *John Wiley & Sons*, (2008)
- [6] - F. BENOIT-VICAL, "Confirmation, in vitro, de l'activité antimalarique de certaines plantes d'origine africaine utilisées en médecine traditionnelle", *Médecine D'Afrique Noire*, Vol. 43, N° 7 (1996) 393 - 400
- [7] - A. SOFOWORA, "Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique", *KARTHALA Editions*, (2010)
- [8] - A. KEMAJOU, L. MBA and A. A. BAGDA, "Effet du séchage sur les principes actifs des plantes médicinales : cas des alcaloïdes totaux des écorces de *Alstonia boonei* Wild, plante antipaludéenne", *Nat. Technol.*, N° 7 (2012) 62 p.
- [9] - C. DABIRE, R. H. C. NEBIE, A. BELANGER, M. NACRO and F. S. SIB, "Effet du séchage de la matière végétale sur la composition chimique de l'huile essentielle et l'activité antioxydante d'extraits de *Ocimum basilicum* L.", *Int. J. Biol. Chem. Sci.*, Vol. 5, N° 3 (2011)
- [10] - H. ABDOUNE, D. YAHIAOUI et S. ALIOUI-ZEMOURI, "Contribution à l'Optimisation d'extraction assistée aux ultra-sons des composés phénoliques et activité antioxydante de *Ziziphus jujuba* L.", (2015)
- [11] - H. TALEB née BOUDERAA and K. MADANI, "Optimisation des conditions d'extraction des polyphénols par micro-ondes et ultrasons des feuilles de *Foeniculum vulgare* par la méthodologie de surface de réponse.", (2015)
- [12] - A. ONISZCZUK, R. PODGÓRSKI, T. ONISZCZUK, W. ŻUKIEWICZ-SOBCZAK, R. NOWAK and M. WAKSMUNDZKA-HAJNOS, "Extraction methods for the determination of phenolic compounds from *Equisetum arvense* L. herb", *Ind. Crops Prod.*, Vol. 61, (2014) 377 - 381

- [13] - Z. KARAMI, Z. EMAM-DJOMEH, H. A. MIRZAEI, M. KHOMEIRI, A. S. MAHOONAK and E. AYDANI, "Optimization of microwave assisted extraction (MAE) and soxhlet extraction of phenolic compound from licorice root", *J. Food Sci. Technol.*, Vol. 52, N° 6 (2015) 3242 - 3253
- [14] - T. JIAO, C. LI, X. ZHUANG, S. CAO, H. CHEN and S. ZHANG, "The new liquid–liquid extraction method for separation of phenolic compounds from coal tar", *Chem. Eng. J.*, Vol. 266, (2015) 148 - 155
- [15] - E. KOLLER, "Génie chimique". *Dunod*, (2014)
- [16] - J. D. HABILA, I. A. BELLO, A. A. DZIKWI, H. MUSA and N. ABUBAKAR, "Total phenolics and antioxidant activity of *Tridax procumbens* Linn", *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*, Vol. 4, N° 3 (2010) 123 - 126
- [17] - K. P. MELINDA, "A comparative study on the antioxidant activity of methanolic leaf extracts of *Ficus religiosa* L, *Chromolaena odorata* (L.) King & Robinson, *Cynodon dactylon* (L.) Pers. and *Tridax procumbens* L.", *Asian Pac. J. Trop. Med.*, Vol. 3, N° 5 (2010) 348 - 350
- [18] - C. C. IKEWUCHI, J. C. IKEWUCHI and M. O. IFEANACHO, "Phytochemical composition of *Tridax procumbens* as a functional food", *Food Nutr. Sci.*, Vol. 6, N° 11 (2015) 992 p.
- [19] - Z. HAYDER, W. ELFALLEH, K. B. OTHMAN, M. A. BENABDERRAHIM and H. HANNACHI, "Modeling of polyphenols extraction from pomegranate by-product using rotatable central composite design of experiments", *Acta Ecol. Sin.*, Vol. 41, N° 2 (2021) 150 - 156