

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad DAHLAB BLIDA 1

Faculté de Technologie

Département Génie des Procédés



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de

MASTER EN GENIE DES PROCEDES

Spécialité : Génie Chimique

Intitulé du mémoire

*Optimisation d'extraction de l'huile essentielle
de l'Absinthe/ Formulation d'une solution à effet
thérapeutique*

Présenté par :

Melle AHMED BEN ALI Yasmine

Melle BEY Amina Hanane

Encadré par :

Mme M.REBIHA

Promotion 2024

ملخص

الأبسنت (أرتيميسيا أبسينثيوم) من عائلة النجمية هو نبات عشبي عطري منتشر على نطاق واسع في منطقة البحر الأبيض المتوسط. يستخدم تقليدياً في الطب لخصائصه العلاجية. تهدف دراستنا إلى تحسين استخلاص المواد النشطة بيولوجياً الموجودة في زيت الأفسنتين العطري عن طريق التقطير المائي. بمجرد الحصول على الزيت العطري، قمنا بصياغة مستحلب صالح للشرب ذو أنشطة دوائية، مما يعزز فعاليته العلاجية. لعب استخدام الخطط التجريبية وبرنامج MODDE 6.0 دوراً رئيسياً في هذا البحث، وقد استخدمنا هذه المنهجية لإجراء اختباراتنا وأيضاً لدراسة العوامل المختلفة التي يمكن أن تؤثر على الاستخلاص والصياغة. لقد وجد أن نسبة المذيب / كتلة المادة النباتية تلعب دوراً حاسماً في تحسين إنتاجية الزيت المستخرج.

الكلمات المفتاحية: الأبسنت، التقطير المائي، المستحلب الصالح للشرب، الخطط التجريبية، الصياغة.

Abstract

Wormwood (*Artemisia absinthium* L.), belonging to the Asteraceae family, is an aromatic herbaceous plant widely distributed in the Mediterranean region. Traditionally used in medicine for its therapeutic properties. Our study aims to optimize the extraction of bioactive substances contained in the essential oil of Absinthe by hydro-distillation. Once the essential oil was obtained, we formulated a drinkable emulsion with pharmacological activities, which reinforces its therapeutic effectiveness. The use of experimental plans and MODDE 6.0 software played a central role in this research; we used this methodology to carry out our tests and to study the different factors that can influence the extraction and the formulation. It was found that the solvent/mass of the plant matter ratio plays a crucial role in improving the yield of extracted oil.

Keywords: Wormwood, hydrodistillation, drinkable emulsion, experimental plans, formulation.

Résumé

L'Absinthe (*Artemisia absinthium* L.), appartenant à la famille des Astéracées, est une plante herbacée aromatique largement répandue dans la région méditerranéenne. Traditionnellement utilisée en médecine pour ses propriétés thérapeutiques. Notre étude vise à optimiser l'extraction des substances bioactives contenues dans l'huile essentielle de l'Absinthe par hydrodistillation. Une fois l'huile essentielle obtenue, nous avons formulé une émulsion buvable présentant des activités pharmacologiques, ce qui renforce son efficacité thérapeutique. L'utilisation des plans d'expériences et du logiciel MODDE 6.0 a joué un rôle central dans cette recherche, on s'est servi de cette méthodologie pour mener à bien nos essais et aussi pour étudier les différents facteurs pouvant influencer l'extraction et la formulation. Il a été trouvé que le ratio solvant /masse de la matière végétale joue un rôle crucial dans l'amélioration du rendement de l'huile extraite.

Mots clés : Absinthe, hydrodistillation, Emulsion buvable, plans d'expériences, formulation.

REMERCIEMENTS

Nous exprimons notre profonde gratitude envers Dieu pour la force et le courage qui nous ont permis de mener à bien ce travail.

Nous remercions sincèrement Madame M. REBIHA, Maitre de conférences B au département des Génies des Procédés de l'université de Blida, pour son soutien inestimable, sa disponibilité et ses conseils avisés.

Nous sommes également reconnaissants envers les membres du jury pour l'honneur d'avoir examiné notre travail.

Nos remerciements vont aux membres du laboratoire de Recherche d'Analyse Fonctionnelles et des Procédés chimiques de l'université de Blida de nous avoir accueilli et pour leur précieuse assistance à leur tête Pr. HADJ SADOK le directeur du laboratoire et Meriem l'ingénieur du laboratoire.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué à l'aboutissement de ce projet.

Dédicace

À ma chère mère, je suis incapable de trouver les mots pour exprimer pleinement mon respect, mon amour éternel et ma gratitude pour tous les sacrifices que vous avez fait pour moi. Merci pour votre soutien indéfectible depuis mon enfance. J'espère sincèrement que vos bénédictions continueront à me guider tout au long de ma vie.

*Ce travail est dédié à mon père **Abd El-Kader**, dont l'influence sur mon parcours est inestimable. Son soutien infini et ses encouragements constants depuis mon enfance sont inoubliables. Que les bénédictions divines accompagnent son âme dans la paix éternelle.*

*Je souhaite exprimer toute ma gratitude envers mes sœurs précieuses, **Sofia** et **Hind**, ainsi que mon cher frère **Ayoub**, pour leur soutien moral constant et leur présence inestimable.*

A ma binôme Amina et sa mère Merci infiniment pour vos soutien.

Enfin, A tous ceux qui ont dit que je ne pouvais pas, je l'ai fait de mon mieux et du fond de mon cœur.

AHMED BEN ALI YASSMINE

Dédicace

Grace à dieu le tout puissant ; la source de Ma Force, le pilier de ma foi et la lumière qui éclaire mon chemin.

J'ai achevé la réalisation de ce Modeste travail que je dédier :

À ma chère maman,

Depuis mon premier souffle jusqu'à ce jour, tu as été mon guide, mon soutien et mon plus grand amour. Tes sacrifices, ta patience et ta tendresse m'ont forgé et m'ont donné la force de devenir la personne que je suis aujourd'hui.

À ma binôme Yasmine

Malgré les défis que nous avons rencontrés, ta détermination et ton soutien inébranlable ont été une source d'inspiration constante, merci d'être non seulement une partenaire de confiance, mais aussi une amie précieuse.

Enfin, je souhaite exprimer ma gratitude envers ma famille et mes amis pour leur soutien indéfectible et à tous ceux qui ont douté de mes capacités je peux affirmer avec certitude que j'ai tout donné de moi-même.

BEY AMINA HANANE

TABLE DES MATIERES

Résumés	
Remerciements	
Dédicaces	
LISTE DES ABREVIATIONS	
LISTE DES SYMBOLES	
LISTE DES FIGURES	
LISTE DES TABLEAUX	
INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE THEORIQUE	
CHAPITRE 1 : GENERALITE SUR LA PLANTE	3
1.1 Introduction	3
1.2 Historique	3
1.3 Origine et distribution géographique	3
1.4 Classification botanique	4
1.5 Description botanique	4
1.6 Exigences écologiques et édaphique	5
1.7 Composition chimique d'Artemisia absinthium	6
1.8 Utilisation de l'absinthe	6
1.8.1 Propriétés thérapeutiques	6
1.8.2 Différents effets de l'absinthe	7
1.8.2.1 Insecticide, Répulsive et Phytotoxique	7
1.8.2.2 Antiparasitaire et Vermifuge	7
1.8.2.3 Activité Antipaludéenne	7
CHAPITRE 2 : L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES	8
2.1. Définition des huiles essentielles	8
2.2 Utilisation des huiles essentielles	8
2.2.1 En pharmacie	8
2.2.2 Parfumerie et cosmétologie	9

2.2.3 Dans l'industrie alimentaire	9
2.3 Toxicité des huiles essentielles	9
2.4 Caractéristiques physiques des huiles essentielles	9
2.5 La conservation des huiles essentielles	10
2.6 Méthodes d'extraction	10
2.6.1 Extraction par entraînement à la vapeur	10
2.6.2 Hydrodistillation	11
2.6.3 Extraction par micro-ondes	12
2.6.4 Extraction par CO ₂ supercritique	13
CHAPITRE 3 : METHODOLOGIE DES PLANS D'EXPERIENCES	14
3.1 Introduction	14
3.2 Principe	14
3.3 Vocabulaire de base des plans d'expériences	16
3.4 Niveau d'un facteur	16
3.5 Domaine expérimental	16
3.6 Les surfaces de réponses	17
3.7 Modélisation par régression linéaire multiple	18
3.8 Conditions d'application des plans d'expériences	18
3.9 Validation du modèle postulé	19
3.9.1 Analyse de la variance	19
3.9.1.1 Déterminer les sources de variation	20
3.9.2 Coefficient de prédiction Q ²	20
3.9.3 Coefficient de détermination R ²	21
3.9.4 Analyse des résidus	21
3.9.5 Signification des effets de facteurs	22
3.9.6 Exploitation du modèle	22
3.10 Plan de surface de réponse de type Box-Behnken	22
3.11 Intérêt des plans d'expériences	23
PARTIE EXPERIMENTALE	
CHAPITRE 4 : MATÉRIELS ET MÉTHODES	24
4.1 Introduction	24
4.2 Matière végétale utilisée	24
4.3 Extraction de l'huile essentielle	25
4.3.1 Optimisation de l'extraction	25

4.3.2 Dispositif expérimental	27
4.3.3 Mode opératoire	27
4.3.4 Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle	28
4.3.5 Calcul du rendement en huile essentielle	28
4.4 Formulation d'une émulsion buvable	28
4.4.1 Etude de pré-formulation	28
4.4.1.1 Matériels utilisés	28
4.4.1.2 Produits utilisés	29
4.4.2 Etude d'optimisation	30
4.4.3 Mode opératoire de préparation d'émulsion buvable	32
4.4.4 Caractérisation de l'émulsion buvable	33
4.4.4.1 Caractérisation organoleptique	33
4.4.4.2 Caractérisation physico-chimique	33
CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION	35
5.1 Introduction	35
5.2 Caractérisation organoleptique de l'huile essentielle	35
5.3 Optimisation des paramètres d'extraction de l'Artemisia Absinthium	36
5.3.1 Résultat de la modélisation	37
5.3.1.1 Analyse statistique	37
5.3.1.2 Modélisation mathématique	39
5.3.2 Etude des effets des facteurs sur le rendement	39
5.3.3 Conditions optimales	41
5.4 Résultats de la caractérisation des émulsions	42
5.5 Optimisation des paramètres de formulation	42
5.5.1 Résultat de la modélisation	46
5.5.1.1 Analyse statistique	46
5.5.1.2 Modélisation mathématique	47
5.5.2 Etude des effets des facteurs sur la viscosité	47
CONCLUSION GENERALE	52
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	53

LISTE DES ABREVIATIONS

AFNOR : Association Française de Normalisation.

ANOVA : Analysis Of Variance.

CM : Carrés Moyens.

DDL : Degrés De Liberté.

HE : Huile Essentielle.

HEC : Hydroxyéthylcellulose.

HLB : Hydrophile/Lipophile Balance.

IA : Indice d'Acide.

MSR : Modélisation en Surface de Réponse.

MV : Matière Végétale.

OMS : L'organisation Mondiale de la Santé

pH : potentiel Hydrogène.

R : Rendement.

SCE : Sommes des Carrées des Ecart.

TA : Tensioactif.

LISTE DES SYMBOLES

$\dot{\gamma}$: Vitesse de cisaillement (s^{-1}).

η : Viscosité apparente (Pa.s).

η_0 : Viscosité apparente à cisaillement nul (Pa.s).

η_∞ : Viscosité apparente à cisaillement infini (Pa.s).

k : Coefficient de consistance.

n : Nombre total d'observations.

p : Indice de loi de puissance.

Y_i : Valeur observée.

\bar{Y} : Moyenne des valeurs observées.

$\hat{Y}_{i,\text{pred}}$: Valeur prédite.

LISTE DES FIGURES

Partie théorique :

Figure 1.1 : Artemisia absinthium L	4
Figure 1.2 : Feuilles d'absinthe originale	4
Figure 1.3 : Fleurs d'Artemisia absinthium L	5
Figure 1.4 : Habitat d'Artemisia absinthium L	6
Figure 2.1 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau	11
Figure 2.2 : Schéma du montage de l'extraction par hydrodistillation	12
Figure 2.3 : Schéma du montage de l'extraction par micro-onde	12
Figure 2.4 : Schéma du montage de l'extraction par CO ₂ supercritique	13
Figure 3.1 : Organigramme général de traitement des plans d'expériences	15
Figure 3.2 : Système de base d'un plan d'expérience	16
Figure 3.3 : Domaine expérimental	17
Figure 3.4 : Surface de réponse	17
Figure 3.5 : Plan de box Behnken pour 3 facteurs	23
Partie expérimentale :	
Figure 4.1 : Partie aérienne de l'Artemisia absinthium	24
Figure 4.2 : Montage hydrodistillation manipulé	27
Figure 4.3 : Rhéomètre ANTON PAAR Modular Compact Rhéomètre MCR 302	29
Figure 4.4 : Préparation de l'émulsion buvable à l'aide d'un homogénéisateur	33
Figure 4.5 : pH-mètre de type HI8424N - HANNA INSTRUMENTS	34
Figure 4.6 : Centrifugation des émulsions buvables préparée	34
Figure 5.1 : Huile essentielle de l'Absinthe	35
Figure 5.2 : Histogramme Représentant des coefficients d'ajustement du modèle mathématique R ² et Q ²	37
Figure 5.3 : Effets des facteurs sur le rendement et leurs interactions	39
Figure 5.4 : Effets quadratiques des facteurs sur la réponse	40

Figure 5.5 : Evaluation du Rendement en fonction de ratio s/m et de temps en fixant la masse, (1) m = 50g, (2) m = 75g, (3) m = 100g	41
Figure 5.6 : La solution buvable avant et après émulsification	42
Figure 5.7 : Courbe d'écoulement d'un essai type	43
Figure 5.8 : Histogramme représentant les coefficients R ² et Q ²	44
Figure 5.9 : Histogramme Représentant les coefficients R ² et Q ² après la réduction de la matrice d'expériences	46
Figure 5.10 : Effets des facteurs sur la viscosité et leurs interactions	47
Figure 5.11 : Effets principaux des facteurs X1 et X3 sur la réponse	48
Figure 5.12 : Effet principal du facteur X2 sur la réponse	48
Figure 5.13 : Effet d'interaction de HEC et TA sur la réponse	49
Figure 5.14 : Effet d'interaction de HEC et HE sur la réponse	49
Figure 5.15 : Effet d'interaction d'HE et TA sur la réponse	50
Figure 5.16 : Représentation schématique de la technique d'émulsification	50
Figure 5.17 : Essai 21 avant et après centrifugation	51

LISTE DES TABLEAUX

Partie théorique :

Tableau 1.1 : Classification botanique	4
Tableau 3.1 : Table de l'analyse de la variance	20

Partie expérimentale :

Tableau 4.1 : Matrice d'expérience « Extraction »	26
Tableau 4.2 : Plan d'expérience « Extraction »	26
Tableau 4.3 : Matrice d'expérience « Formulation »	31
Tableau 4.4 : Plan d'expérience« Formulation »	32
Tableau 5.1 : Résultats des essais d'extraction	36
Tableau 5.2 : Table de l'ANOVA	38
Tableau 5.3 : Les conditions de réponses optimales	41
Tableau 5.4 : Plan d'expérience avec toutes les réponses	44
Tableau 5.5 : Résultat des essais de formulation	45
Tableau 5.6 : Table de l'ANOVA	46

INTRODUCTION GENERALE

Depuis l'aube de l'humanité, les plantes permettent à l'homme non seulement de se nourrir, se vêtir, se loger, se chauffer, se parfumer ... mais aussi de maintenir son équilibre, soulager ses souffrances, préserver et soigner les maladies qui nuisent à sa santé [1].

L'organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime que près de 80 % d'habitants qui peuplent la planète a essentiellement recours aux médecines traditionnelles [2].

Les végétaux aromatiques, renfermant des concentrations élevées d'huiles essentielles, captivent l'attention grâce à leur gamme étendue de propriétés bioactives [3]. Notre intérêt se focalise spécifiquement sur le genre *Artemisia*, un composant éminent de la biodiversité florale algérienne [4], et plus précisément sur *Artemisia absinthium* L., connue localement sous le nom de "Chiba". Cette espèce, jouissant d'une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle, suscite un intérêt soutenu en raison de ses vertus thérapeutiques, comprenant notamment ses capacités antipyrétiques, antimicrobiennes, et insecticides [5].

L'absinthe est couramment utilisée pour soulager divers troubles digestifs, notamment les ulcères, les brûlures d'estomac et la diarrhée. De nombreuses études [5-6] ont été menées dans ce domaine, s'inscrivant dans le cadre plus large de la valorisation de la biodiversité des plantes aromatiques et médicinales algériennes, avec un accent particulier sur les espèces du genre *Artemisia*. Le genre *Artemisia*, l'un des plus significatifs de la famille des Asteraceae, compte onze espèces répertoriées en Algérie [6], mettant en lumière l'importance de cette flore dans le patrimoine médicinal du pays.

De nombreuses études ont été menées sur la caractérisation chimique et les activités biologiques de cette espèce. Une recherche sur la composition chimique de l'huile d'absinthe provenant de Turquie [5] a révélé la présence de 101 composants.

Juteau et al. [7] et Renouf, A [8] ont montré que l'effet antimicrobien des huiles essentielles d'absinthe peut varier selon la région d'origine.

Kordali et ses collègues [5] ont étudié l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle d'absinthe en provenance de Turquie. Leur recherche a révélé que l'absinthe possède une activité antifongique contre toutes les espèces fongiques testées.

Benmimoune, S. [9] a mené une étude pour évaluer l'impact des différentes méthodes d'extraction sur le rendement et la composition chimique des huiles essentielles d'absinthe de la région de Cherchell (Algérie). Les résultats ont montré que la méthode d'hydrodistillation a présenté le rendement moyen en huile essentielle le plus élevé, avec $0,56 \pm 0,05$ %. En comparaison, la méthode d'entraînement à la vapeur d'eau a montré un rendement moyen légèrement inférieur, avec $0,45 \pm 0,08$ %.

Cependant, à notre connaissance, aucune étude détaillée n'a été réalisée auparavant sur l'optimisation de l'extraction de cette plante par hydrodistillation en utilisant des plans d'expérience par contre y'a des travaux qui ont optimisé l'extraction d'absinthe par micro-ondes [10].

Dans le cadre de notre étude, nous cherchons à optimiser les conditions d'extraction de l'huile essentielle d'absinthe, en faisant varier plusieurs paramètres, et ce en utilisant la méthode des plans d'expériences. De plus, nous nous intéressons à utiliser l'huile extraite dans une application thérapeutique. Pour cela, on a choisi une formulation pharmaceutique d'une émulsion buvable.

Notre travail est divisé en deux parties :

- ✓ La première partie se concentre sur l'étude des méthodes d'extraction des huiles essentielles à partir de la matière végétale, ainsi que sur l'importance de l'utilisation des plans d'expériences dans ce processus.
- ✓ La deuxième partie détaille nos expériences pratiques, mettant en œuvre les plans d'expériences pour extraire l'huile essentielle d'absinthe et formuler une émulsion buvable, ainsi que la caractérisation rhéologique et l'étude de stabilité de cette dernière. Les résultats obtenus sont ensuite discutés et des conclusions sont tirées.

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE 1 : GENERALITE SUR LA PLANTE

1.1 Introduction :

La famille des Astéracées est la plus étendue du monde végétal c'est la deuxième après les orchidées, comprend environ 25000 espèces réparties en 1300 genres, dispersées sur toute la Terre [11]. Le genre *Artemisia* est un genre qui appartient à la famille composite (Asteraceae) et se compose d'environ 500 espèces, réparties à travers le monde [12]. Plus d'une dizaine d'espèces ont été déterminées en Algérie ; certaines sont rares et disséminées en hautes montagnes, ou cantonnées dans certaines limites ; d'autres sont au contraire particulièrement abondantes et répandues sur de grandes étendues.

1.2 Historique :

L'absinthe est l'une des plus anciennes plantes médicinales connues. Depuis le temps les plus reculés ; on l'utilisait dans la thérapeutique. C'est une boisson alcoolisée très renommée appelée aussi « La Fée verte ». Cependant, l'huile est toxique et la plupart des pays ont interdit sa fabrication depuis le début du 20ème siècle. La plante fut déclarée toxique à cause de la présence des thuyones. Ce n'est qu'en 1999 qu'il est à nouveau permis de cultiver, de distiller et de consommer la plante [13].

1.3 Origine et distribution géographique :

En Algérie, l'*Artemisia absinthium* L. est désignée par divers noms vernaculaires. En arabe, elle est appelée Chiha Coracani, Chaibet el Adjouz, Degnet Echeikh, ou Chiba [14]. Dans d'autres régions, cette plante herbacée est connue sous plusieurs appellations à travers l'Europe : Absinthe en français, Wormwood en anglais, encens en espagnol, et assenzo en italien [13]. Originaires du sud de la Sibérie et du Cachemire, l'absinthe est cultivée dans les Balkans, en Angleterre, en France, en Afrique du Nord (Algérie et Maroc), ainsi que dans l'est de l'Amérique du Nord au Canada et en Turquie [15].

1.4 Classification botanique :

L'absinthe appartient aux : [16]

Tableau 1.1 : Classification botanique.

Règne	Plante
Sous-règne	Tracheobionta
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Arteridae
Ordre	Astérales
Famille	Astéracées
Genre	Artemisia
Espèce	Artemisia absinthium



Figure 1.1 : Artemisia absinthium L

1.5 Description botanique :

L'*Artemisia absinthium* appartenant généralement à la famille des astéracées connue sous le nom d'absinthe [17] est une plante aromatique, herbacée et vivace de 40 – 100 cm ou plus de long à tige ligneuse [18].

Les feuilles sont très divisées, ovées, gris-verdâtre au-dessus, blanche dessous, soyeuse, pétiolées et profondément découpées en lanières obtus. Les feuilles inférieures sont tripennatiséquées, les supérieures sont moins divisées [19]. Les racines sont pivotantes avec un diamètre de 5 cm et ramifications s'étend dans toutes les directions jusqu'à 72 cm [17].



Figure 1.2 : Feuilles d'absinthe originale [20].

La saison de floraison se situe généralement entre juillet et octobre, les inflorescences sont de petits capitules floraux jaunes, globuleux, disposés en grappes composées, ramifiées. Le fruit est un akène de petite taille, lisse et sans aigrette [21]. L'absinthe pousse facilement à une altitude de 600 à 1000 mètre sur des terrains propres, aérés et rocailloux



Figure 1.3 : Fleurs d'Artemisia absinthium L [20].

La plante possède un rhizome dur. Elle possède une forte odeur (essence d'absinthe) et une saveur amère due à l'absinthine [19]. Cette "herbe sainte" entrait dans un grand nombre de remède [22].

1.6 Exigences écologiques et édaphique :

La plantation de l'Absinthe exige des endroits bien ensoleillés ; une terre souple, légère. Aime les sols riches en azote, elle peut pousser dans les régions à faible pluviosité et sa culture est possible également dans des zones arides et sèches [23].

L'absinthe n'est pas exigeante en sol, elle pousse dans les plaines, montagnes, pentes, régions sèches et arides, terrains rocheux et le bord des routes, Elle réussit sur des sols acides et sols argileux calcaires (figure 1.4). Cette plante est disséminée également dans les régions incultes. Elle

est même indiquée pour mettre en valeur les terrains pauvres et inaptes aux autres cultures [23].



Figure 1.4 : Habitat d' *Artemisia Absinthium* L [23].

1.7 Composition chimique d' *Artemisia absinthium* :

La plante d'absinthe (*Artemisia absinthium* L.) est constituée d'un grand nombre de composés chimiques : [24-25]

- les substances amères (0.15-0.4%) : Parmi ces substances on distingue :
 - ✓ Les lactones sesquiterpéniques dimères
 - ✓ Les lactones sesquiterpéniques monomères
- les huiles essentielles (0.2-1.5%) : est composée en majorité de composés terpéniques et en particulier de monoterpène (environ 85 %) [26].

1.8 Utilisation de l'absinthe :

1.8.1 Propriétés thérapeutiques :

L'Absinthe (*Artemisia absinthium* L.) est renommée depuis longtemps pour ses propriétés apéritives et digestives, favorisant le transit intestinal. Utilisée pour traiter les affections atoniques du tube digestif, telles que l'anorexie et la constipation, elle est particulièrement bénéfique pour les personnes anémiques, convalescentes ou neurasthéniques. Grâce à son acidité, elle stimule la sécrétion biliaire [27], tandis que son huile essentielle facilite la digestion [28]. En tant que tonique amer, elle contient des lactones sesquiterpéniques qui stimulent l'estomac de manière réflexe, ouvrant ainsi l'appétit et facilitant les digestions difficiles [29]. Des études ont démontré qu'elle stimule la sécrétion des sucs digestifs par l'estomac, ainsi que la production et la sécrétion de bile par le foie, offrant ainsi des bienfaits digestifs significatifs [29].

1.8.2 Différents effets de l'absinthe :

1.8.2.1 Insecticide, Répulsive et Phytotoxique :

L'*Artemisia absinthium* est utilisée depuis des siècles pour repousser les insectes, mites, vers et araignées dans les foyers, ainsi que pour éloigner les taupes dans les jardins écologiquement [27]. Ses huiles essentielles sont efficaces en friction contre les piqûres d'insectes et peuvent être appliquées en lotion sur les animaux pour les protéger contre les mouches et les taons [30]. Des études ont révélé que ses huiles essentielles, riches en divers composés, présentent une efficacité significative contre les insectes nuisibles et les parasites, soulignant l'importance de leur action synergique [31].

1.8.2.2 Antiparasitaire et Vermifuge :

L'Absinthe est largement reconnue pour ses propriétés antiparasitaires et vermifuges, offrant une alternative naturelle aux produits chimiques [26]. Des extraits alcooliques se sont révélés efficaces contre les nématodes parasites, rivalisant avec les médicaments conventionnels. L'utilisation de l'extrait alcoolique favorise une absorption rapide des principes actifs [32], démontrant ainsi son efficacité contre divers parasites [33], y compris les helminthes et les protozoaires [34].

1.8.2.3 Activité Antipaludéenne :

Les propriétés antiparasitaires de l'Absinthe soulèvent des questions sur son efficacité contre les parasites du genre *Plasmodium*, responsables du paludisme, une maladie parasitaire majeure dans le monde [35-36]. Les recherches se concentrent sur l'utilisation de l'Absinthe comme alternative moins coûteuse et moins sujette à la résistance que les traitements conventionnels. Les études ont montré un potentiel prometteur dans le traitement du paludisme, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles thérapies plus accessibles et efficaces [37].

CHAPITRE 2 : L'EXTRACTION DES HUILES ESSENTIELLES

2.1 Définition des huiles essentielles :

Les huiles essentielles (essences = huiles volatiles) sont : « des produits de composition généralement assez complexe renfermant les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiés au cours de la préparation » [38].

Plus récemment, la norme AFNOR, [39] a donné la définition suivante d'une huile essentielle : « Produit obtenu à partir d'une matière première végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par des procédés mécaniques à partir de l'épicarpe des citrus, soit par distillation à sec ».

Les huiles essentielles sont des liquides huileux aromatiques très concentrés renfermant des mélanges complexes des substances volatils constitués de plusieurs dizaines de composés, se retrouvent dans toutes les parties de la plante (écorces, racines, feuilles, fleurs et fruits) et dans toutes les régions climatiques du globe. Les facteurs environnementaux comme la température, l'irradiante et la photopériode peuvent jouer un rôle primordial sur la qualité et la quantité de l'huile essentielle [40].

Les composants des huiles essentielles peuvent être classés également en deux groupes principaux :

- 1- Les hydrocarbures qui consistent les terpènes, tels que monoterpène, sesquiterpènes, et diterpènes.
- 2- Les composés oxygénés, tels que les esters, aldéhydes, cétones, alcools.

Parfois on retrouve aussi des composés azotés et soufrés [40].

2.2 Utilisation des huiles essentielles :

Ces produits naturels présentent un grand intérêt comme matière première destinée à différents secteurs d'activité tels que :

2.2.1 En pharmacie :

Les HE peuvent être utilisés comme :

- ✓ L'aromatisation des médicaments destinés à la voie orale.
- ✓ Pour leurs actions physiologiques (Menthes, Verveine, Camomille).

2.2.2 Parfumerie et cosmétologie :

De nombreux parfums sont toujours d'origine naturelle et certaines HE constituent des bases des parfums.

Exemples : Rose, Jasmine, Vétiver, Ylang-ylang, etc...[41].

2.2.3 Dans l'industrie alimentaire :

Les HE (huile de citron, de menthe, de girofle) sont très utilisés dans l'aromatization des aliments (jus de fruits, pâtisserie).

Quel que soit le secteur d'activité, l'analyse des HE reste une étape importante qui, malgré les progrès constants des différentes techniques de séparation et d'identification, demeure toujours une opération délicate nécessitant la mise en œuvre simultanée ou successive de diverses techniques [38].

2.3 Toxicité des huiles essentielles :

Les huiles essentielles ne sont pas des produits qui peuvent être utilisés sans risque. Certaines huiles essentielles sont dangereuses lorsqu'elles sont appliquées sur la peau en raison de leur pouvoir irritant (huiles riches en Thymol ou en Carvacrol), allergène (huiles riches en cinnamaldéhyde ou phototoxique (huiles de citrus contenant des fur-coumarines).

D'autres huiles essentielles ont un effet neurotoxique, les cétones comme l' α -thujone sont particulièrement toxiques pour les tissus nerveux [42].

2.4 Caractéristiques Physiques des Huiles Essentielles :

La plupart des huiles essentielles ont une densité inférieure à celle de l'eau et peuvent être distillées à la vapeur. Cependant, il existe des exceptions telles que les huiles essentielles de Sassafras, de Girofle et de Cannelle, qui ont une densité supérieure à celle de l'eau. Elles présentent souvent un indice de réfraction élevé et peuvent avoir un pouvoir rotatoire.

Les huiles essentielles s'évaporent facilement à température ambiante et sont peu solubles dans l'eau, mais elles peuvent imprégner l'eau pour créer une "eau distillée florale" avec leurs arômes. Elles sont solubles dans les alcools, les huiles fixes et la plupart des solvants organiques.

Leur point d'ébullition varie selon leur poids moléculaire. Par exemple, le caryophyllène, le géraniol, le citral et le α -pinène ont des points respectifs de 260°C, 230°C, 228°C et 156°C [43]. Cependant, les huiles essentielles sont sensibles à l'oxydation à la lumière, ce qui modifie leurs caractéristiques physiques telles que leur point d'ébullition et leur solubilité. Elles peuvent également réagir avec des éléments comme le chlore, le brome et l'iode en produisant de la chaleur [44].

2.5 La conservation des huiles essentielles :

A cause de leur évaporation rapide, leur sensibilité à l'air et à la lumière, les huiles essentielles doivent être conservées dans des flacons opaques et fermés hermétiquement [45].

2.6 Méthodes d'extraction :

Parmi de nombreuses techniques d'extraction des huiles essentielles, la distillation est la méthode la plus ancienne et également la plus utilisée. D'autres techniques plus récentes ont été développées afin d'améliorer le rendement ou la qualité des huiles essentielles extraites, diminuer le temps d'extraction, réduire la quantité du solvant utilisé et accélérer la cinétique d'extraction [46].

2.6.1 Distillation par entraînement à la vapeur :

La distillation par entraînement à la vapeur est l'une des procédés les plus utilisés pour l'obtention des huiles essentielles (figure 2.1). Dans ce système d'extraction, le matériel végétal est placé dans l'alambic sur une plaque perforée située à une certaine distance au-dessus du fond rempli d'eau. Le végétal est en contact avec la vapeur d'eau saturée mais pas avec l'eau bouillante.

La vapeur provoque la rupture d'un grand nombre de glandes qui libèrent leurs composés aromatiques. Les huiles essentielles diffusent donc à travers le végétal pour entrer en contact avec la vapeur d'eau circulant à l'extérieur. Les vapeurs chargées en composés volatils sont ensuite condensées avant d'être décantées. Du fait de leur différence de densité, les HE et l'eau sont séparées en deux phases et les HE sont ensuite récupérés [47].

Avantages de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau :

- Cette technique préserve la composition des huiles essentielles en évitant les réactions avec l'eau.
- Elle est efficace pour extraire les huiles situées à la surface des plantes.
- L'extraction est plus rapide et nécessite moins de vapeur pour les huiles superficielles.
- Elle réduit la contamination par des solvants ou des produits chimiques, obtenant ainsi un extrait plus pur.

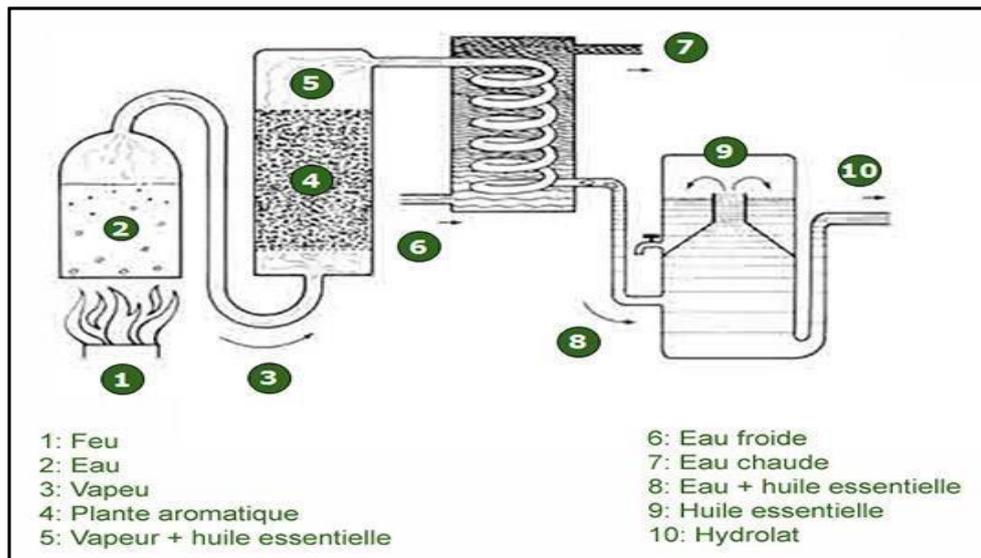


Figure 2.1 : Schéma du montage de l'extraction par entraînement à la vapeur d'eau.

2.6.2 Hydrodistillation :

Dans un premier temps, l'extraction des huiles essentielles se fait en plongeant la matière première dans l'eau puis porter à ébullition, c'est l'hydrodistillation (figure 2.2). Par la suite, la matière première et l'eau sont séparées : soit l'eau est placée au fond de la cuve avant d'être portée à ébullition pour qu'un courant de vapeur d'eau traverse la matière première, c'est la vapo-hydrodistillation ; soit la vapeur d'eau est générée dans une chaudière à l'extérieur de l'alambic, technique dite vapo-distillation. Dans ces divers cas, la vapeur d'eau chargée d'huile essentielle est dirigée vers un condenseur formé généralement d'un serpentin, à tubes parallèles, dans lequel circule de l'eau froide. Une fois condensées, eau et huile essentielle sont acheminées vers un essencier ou vase florentin. Dans ce dernier, les deux liquides, non miscibles : l'eau aromatisée et l'huile essentielle. La séparation se fait ensuite par une simple décantation [46].

Avantages de cette technique d'extraction :

- Cette méthode permet une extraction efficace des composés volatils des plantes.
- Elle est adaptée à une large gamme de plantes et de matériaux végétaux.
- L'hydrodistillation permet de produire des huiles essentielles de haute qualité, préservant ainsi leurs propriétés thérapeutiques et aromatiques.
- Cette technique est relativement simple et ne nécessite pas de matériel sophistiqué.
- Elle permet d'obtenir des rendements satisfaisants en huiles essentielles.
- L'hydrodistillation est respectueuse de l'environnement, car elle n'utilise généralement pas de solvants chimiques.

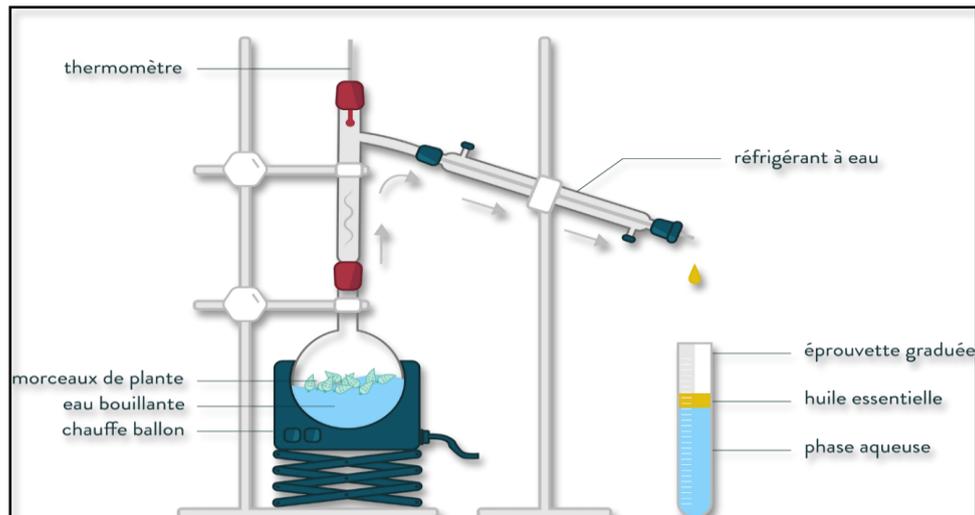


Figure 2.2 : Schéma du montage de l'extraction par hydrodistillation.

2.6.3 Extraction par micro-ondes :

Au début des années 1990 est apparue une toute nouvelle technique appelée hydrodistillation par micro-ondes sous vide (Figure 2.3). Dans ce procédé, la matrice végétale est chauffée par micro-ondes dans une enceinte close dans laquelle la pression est réduite de manière séquentielle. Les composés volatils sont entraînés par la vapeur d'eau formée à partir de l'eau propre à la plante. Ils sont ensuite récupérés à l'aide des procédés classiques de condensation, refroidissement et décantation [48].

Les avantages de ce procédé d'extraction sont :

- Elle réduit le temps d'extraction par rapport aux méthodes conventionnelles telles que l'hydrodistillation.
- L'extraction par micro-ondes nécessite moins de solvants, ce qui la rend plus respectueuse de l'environnement.
- Elle peut être facilement contrôlée et ajustée pour optimiser le processus d'extraction.

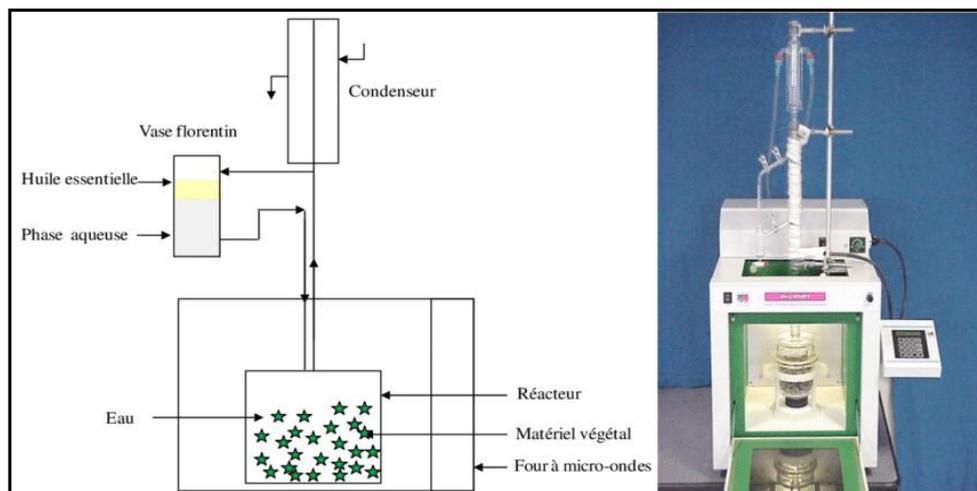


Figure 2.3 : Schéma du montage de l'extraction par micro-onde.

2.6.4 Extraction par CO₂ supercritique :

L'originalité de cette technique repose sur le solvant utilisé : il s'agit du CO₂ en phase supercritique. L'extraction consiste à comprimer le dioxyde de carbone à des pressions et à des températures au-delà de son point critique (P=72.8 bars et T= 31.1°C). A l'état supercritique, le CO₂ n'est ni liquide, ni gazeux, et cela lui confère un excellent pouvoir d'extraction, modulable à volonté en jouant sur la température de mise en œuvre. Les fluides supercritiques comme le CO₂ sont de bons solvants à l'état supercritique, et de mauvais solvants à l'état gazeux [47].

Les avantages de ce procédé sont les suivants (figure 2.4) :

- Le CO₂ est totalement inerte chimiquement, il est naturel, non toxique et peu coûteux. En fin de cycle, la séparation entre le solvant d'extraction et le soluté pour obtenir l'extrait est facile (simple détente qui ramène le CO₂ à l'état gazeux), avec une récupération quasi totale et peu coûteuse.
- L'extraction des huiles essentielles par le CO₂ supercritique fournit des huiles de très bonne qualité et en temps d'extraction relativement court par rapport aux méthodes classiques.

Cependant l'installation industrielle de ce procédé reste onéreuse, et l'appareillage est encore envahissant. [47].

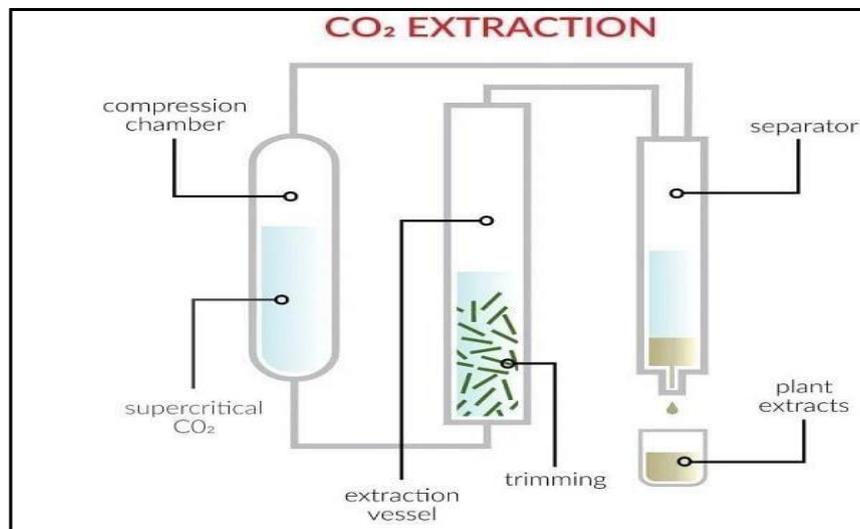


Figure 2.4 : Schéma du montage de l'extraction par CO₂ supercritique.

CHAPITRE 3 : METHODOLOGIE DES PLANS D'EXPERIENCES

3.1 Introduction :

Dans de nombreuses disciplines, il est courant d'analyser un phénomène qui dépend de divers paramètres. Toutefois, une approche intuitive consistant à fixer le niveau de toutes les variables sauf une, puis à mesurer la réponse pour différentes valeurs de cette variable mobile, n'est pas toujours la plus efficace.

3.2 Principe :

La technique des plans d'expériences consiste à faire varier simultanément les niveaux d'un ou plusieurs facteurs (qui sont les variables, discrètes ou continues) à chaque essai. Ceci va permettre de diminuer fortement le nombre d'expériences à réaliser tout en augmentant le nombre de facteurs étudiés, en détectant les interactions entre les facteurs et les optimaux par rapport à une réponse en permettant de modéliser facilement les résultats. Le point délicat dans l'utilisation des plans d'expériences sera donc de minimiser le plus possible le nombre d'expériences à mener sans sacrifier la précision des résultats. Donc la construction d'un plan d'expériences consiste à extraire du domaine expérimental, un nombre N suffisant de combinaisons particulières afin d'estimer, avec une incertitude à la fois minimale mais aussi homogène, les p inconnues du modèle tout en respectant au mieux les contraintes techniques et économiques de l'étude. Il existe actuellement un nombre important de plans différents. Chacun, par ses propriétés, permet de résoudre certains problèmes particuliers. Nous pouvons cependant citer quelques types des plans d'expériences :

- ❖ **Les plans de criblage (screening)**
- ❖ **Les plans d'optimisation (MSR)**
- ❖ **Les plans de mélange**

L'expérimentateur doit concevoir le plan d'expérience adéquat afin de répondre à une problématique bien précise. Il faut donc choisir ou construire le plan qui donnera les informations recherchées. On ne pourra donc pas utiliser le même plan pour étudier efficacement les effets des paramètres tout en cherchant un optimum.

Pour pouvoir utiliser les plans d'expérience, il existe une démarche bien précise à mettre en œuvre. Cette démarche s'articule selon les étapes présentées sur la figure (3.1) et qu'on peut résumer en trois grandes lignes :

La formalisation du problème expérimental c'est-à-dire les étapes préliminaires qui posent la problématique

- ✓ Connaitre les réponses étudiées.
- ✓ Définir les facteurs à optimiser.

L'analyse du problème conduit à choisir une stratégie de construction d'un plan d'expérience, dans notre étude on aura accès au plan d'optimisation (surfaces de réponses).

Les analyses (statistiques et graphiques) et les résultats (interprétation, validation).

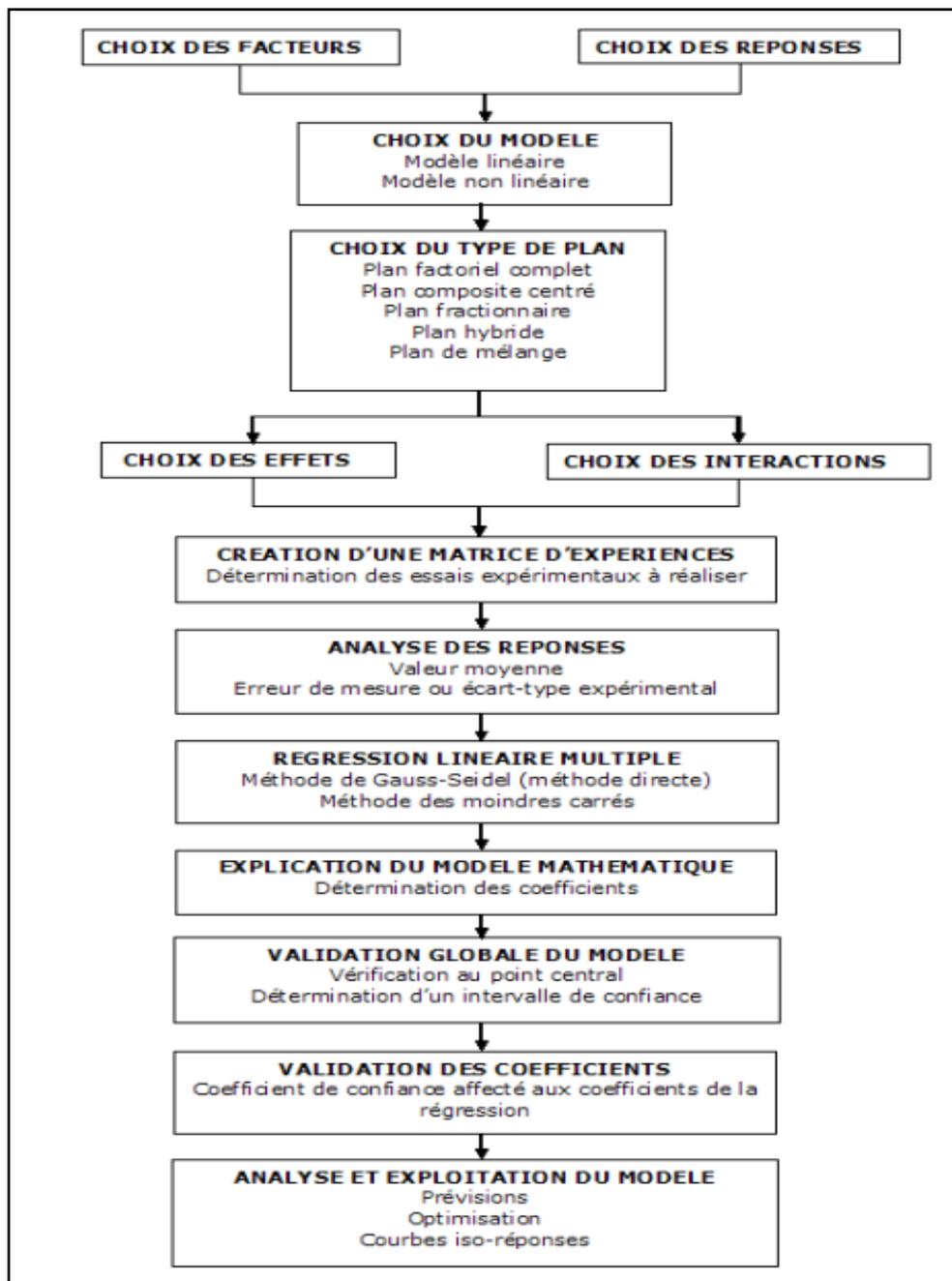


Figure 3.1 : Organigramme général de traitement des plans d'expériences [49].

3.3 Vocabulaire de base des plans d'expériences :

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

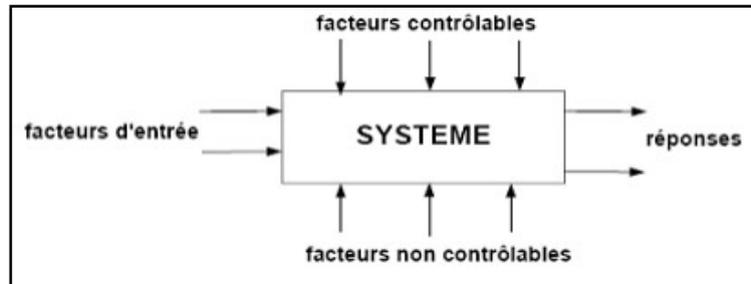


Figure 3.2 : Système de base d'un plan d'expérience.

Parmi les facteurs on distinguera :

- Les facteurs contrôlables qui dépendent directement du choix (pression, température, ...)
- Les facteurs non contrôlables qui varient indépendamment du choix (conditions climatiques, environnement d'utilisation...)
- Les facteurs d'entrée dont on cherche à analyser une influence (matière première, vitesse d'agitation, température,...)

3.4 Niveau d'un facteur :

La valeur que prend le facteur au cours des essais, il importe d'attribuer à chaque facteur au moins deux niveaux : un niveau supérieur et un niveau inférieur. Pour les facteurs quantitatifs la valeur est algébrique, donc classé numériquement. Pour les facteurs qualitatifs les valeurs ne sont pas mesurables, alors peu importe leur classement l'important est de mettre une borne inférieure et une borne supérieure (+1 et -1). Les niveaux extrêmes de chaque facteur délimitent le domaine de l'étude [50].

3.5 Domaine expérimental :

Le domaine est délimité par les niveaux supérieurs et inférieurs de chaque facteur [51]. (Figure 3.3).

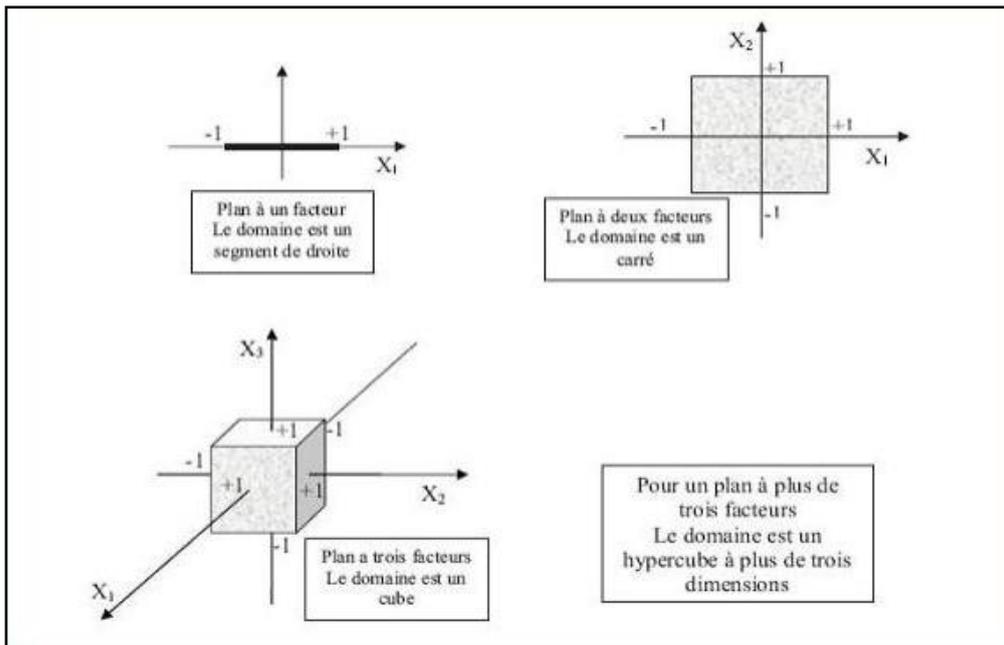


Figure 3.3 : Domaine expérimental.

3.6 Les surfaces de réponses :

À chaque point du domaine d'étude correspond une réponse. À l'ensemble de tous les points du domaine d'étude correspond un ensemble de réponses qui se localise sur une surface appelée surface de réponse

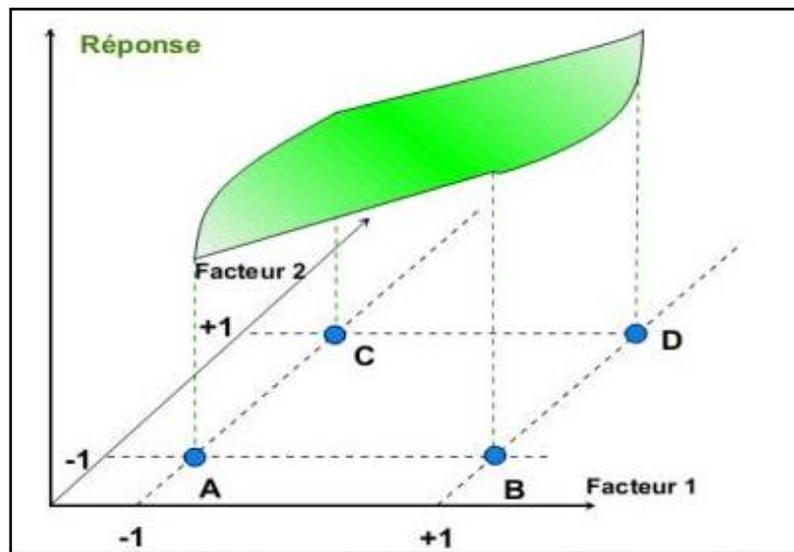


Figure 3.4 : Surface de réponse.

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

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

3.7 Modélisation par régression linéaire multiple :

Pour permettre la prévision de la réponse et l'optimisation du système, la méthode des plans d'expérience par sa conception et sa structure permet une représentation mathématique de la réponse « y » en fonction des facteurs sujets de l'étude. Nous nous limiterons aux modèles polynomiaux linéaires en utilisant la régression linéaire multiple qui se base principalement sur la méthode des moindres carrés. Deux conditions doivent être respectées [52] :

- Le nombre minimal des essais effectués doit être égal au nombre des inconnues A_i , et augmente avec le degré du polynôme. Donc il est de notre intérêt de rechercher les modèles les plus simples avant tout.
- Le modèle constitué doit être validé afin que les prévisions soient fiables.

Modèle postulé :

Les modèles recherchés sont des modèles exprimant la ou les réponses «y» en fonction des facteurs « X_i »et leurs interactions [51] :

$$Y = A_0 + \sum_{i=1}^k A_i X_i + \sum_{ij} A_{ij} X_i X_j + \sum_{ijk} A_{ijk} X_i X_j X_l + \dots + \sum A_{ii} X_{ii}^2 + e$$

Avec :

A_i : effet principale

A_{ij} : effet d'interaction

A_{ii} : effet quadratique

3.8 Conditions d'application des plans d'expériences :

Les plans d'expériences sont une méthodologie bien adaptée à la recherche à chaque fois qu'intervient un grand nombre de paramètres. Ils permettent de réduire fortement le nombre d'essais, de gagner du temps et de l'argent, tout en parvenant à un meilleur résultat. Trois éléments sont indispensables pour réussir cette méthodologie : la planification des essais et la qualité de l'expérience, ensuite, la maîtrise d'outils mathématiques tels que la régression linéaire multiple, enfin, l'apport des statistiques pour la validation globale des modèles et la détermination des effets

significatifs. Pour appliquer la méthode des plans d'expériences, il faut que les deux conditions suivantes soient réalisées [53] :

- **Condition 1 :**

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

- **Condition 2 :**

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

3.9 Validation du modèle postulé :

Un modèle postulé doit sûrement être validé statistiquement avant d'être utilisé. Une fois les coefficients sont identifiés, il est recommandé de s'assurer de la validité du modèle obtenu dans le domaine concerné.

3.9.1 Analyse de la variance :

L'analyse de la variance est une technique statistique permettant de savoir si une ou plusieurs variables dépendantes (variables à expliquer) sont en relation avec une ou plusieurs variables dites indépendantes (variables explicatives). La forme générale de l'analyse de variance repose sur le test de Fisher et donc sur la normalité des distributions et l'indépendance des échantillons.

La première étape de l'analyse de la variance consiste à expliquer la variance totale sur l'ensemble des échantillons en fonction de la variance due aux facteurs (la variance expliquée par le modèle) et de la variance résiduelle (la variance non expliquée par le modèle). Le modèle sera explicatif si la valeur de p-value est inférieure au seuil de risque 5%. La deuxième décomposition de la variance en deux source d'erreur permet de calculer Le « Manque d'ajustement » ou « lack of fit » (en anglais) qui mesure la différence qui existe entre le modèle a priori (modèle postulé) qui a été choisi par l'expérimentateur et le modèle réel qui régit le phénomène étudié.

Le modèle sera statistiquement accepté (pas de manque d'ajustement) si la valeur de p-value est supérieure au seuil de risque 5%. Pour réaliser la table de l'ANOVA il faut :

3.9.1.1 Déterminer les sources de variation :

- Calculer les degrés de liberté (DDL) de chaque source.
- Calculer les sommes des carrés des écarts (SCE) de chaque source.
- Calculer les carrés moyens (CM) de chaque source.

La table d'ANOVA permet de résumer les calculs nécessaires :

Tableau 3.1 : Table de l'analyse de la variance.

Source de la variance	Sommes des carrés	Degrés de liberté	Carré moyen	ratio F	p-value
Modèle	SCE facteur	DDL facteur	$S_{facteur}^2 = \frac{SCE_{facteur}}{DDL_{facteur}}$	$F = \frac{S_{facteur}^2}{S_{résidu}^2}$	P (Fobs>Fcr)
Résiduelle	SCE résidu	DDL résidu	$S_{résidu}^2 = \frac{SCE_{résidu}}{DDL_{résidu}}$		
Totale	SCE total	DDL total			

3.9.2 Coefficient de prédiction Q² :

Le pouvoir global de prédiction est traduit par la valeur de Q² dont la limite supérieure est 1 :

$$Q^2 = 1 - \frac{\sum_1^n (Y_i - \hat{Y}_{i,pred})^2}{\sum_1^n (Y_i - \bar{Y})^2}$$

Y_i : Valeur observée (réelle) pour l'observation i.

$\hat{Y}_{i,pred}$: Valeur prédite par le modèle pour l'observation iii dans le cadre de la validation croisée.

\bar{Y} : Moyenne des valeurs observées.

n : Nombre total d'observations.

Pour qu'il y ait un bon pouvoir de prédiction, Q² doit être le plus proche de 1.

Si $Q^2 > 0,5$ on peut considérer que le pouvoir de prédiction est bon.

Si $Q^2 > 0,9$, le pouvoir de prédiction est excellent.

Si Q^2 est négatif, alors aucune prédiction n'est valable. Idéalement, il ne doit pas y avoir un écart supérieur à 0,2-0,3 entre R^2 et Q^2 .

3.9.3 Coefficient de détermination R^2 :

L'analyse de la variance permet de calculer aussi une statistique très utile nommé coefficient de détermination R^2 . C'est le pourcentage de la variation de la réponse expliqué par sa relation avec une ou plusieurs variables de prédiction. Cette valeur est calculée comme 1 moins le rapport de la somme des carrés de l'erreur (variation non expliquée par le modèle) sur la somme totale des carrés (variation totale du modèle) [54-56]

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

- Le R^2 est toujours compris entre 0 et 100 % et devrait être supérieur à 0,8 pour un modèle raisonnable.
- Le R^2 joue véritablement son rôle d'indicateur de la qualité du modèle à condition que les résidus ne soient pas nuls. Si les résidus sont nuls, le R^2 est égal à 1 quelle que soit la qualité du modèle. On observe un tel cas lorsqu'il n'y a pas de degrés de liberté.

3.9.4 Analyse des Résidus :

Les résidus ou " erreurs observées " sont définis comme étant les différences entre les valeurs observées et les valeurs estimées par un modèle de régression, ils ont la particularité de représenter la partie non expliquée par l'équation de régression.

On les note communément comme suit : $e_i = Y_i - \hat{Y}_i$

L'analyse des résidus a pour objectif de tester la validité d'un modèle de régression. Elle permet de déceler les défaillances d'un modèle, c'est pourquoi il est nécessaire de l'effectuer avant toute analyse de régression. Les méthodes d'analyse des résidus, ou des résidus réduits sont principalement des méthodes d'analyse graphique. Pour détecter la présence d'une défaillance dans le modèle considéré, deux graphiques peuvent être utilisés :

- Courbe des résidus en fonction des valeurs ajustées de Y.

- Courbe des résidus en fonction des valeurs des variables explicatives.

L'analyse de ces Courbe est assez simple. En effet, il s'agit de vérifier que la représentation des résidus ne présente aucune structure particulière.

3.9.5 Signification des effets de facteurs :

Le calcul d'un effet de facteur ou d'une interaction entre facteurs fait intervenir l'ensemble des résultats de mesure. Or, ces derniers sont collectés tout le long de la campagne expérimentale, ils sont entachés d'erreurs de mesure. Et que seul l'écart type de mesure permet son estimation. Après avoir établi le modèle mathématique, il s'agit de savoir si les coefficients du modèle (facteurs et interactions) sont significativement différents de zéro. En effet, des valeurs mathématiques voisines de zéro peuvent être la conséquence de la dispersion expérimentale autour d'une valeur moyenne nulle. On va donc comparer la valeur du coefficient à l'erreur étalon de mesure. Si ces deux valeurs sont du même ordre de grandeur, on conclura à la nullité de l'effet (ou de l'interaction) envisagé. Un test est réalisé pour vérifier la signification de ces effets en comparant la valeur de p-value (Probabilité qu'un coefficient soit négligeable) avec le seuil de risque 5%.

3.9.6 Exploitation du modèle :

Le modèle final retenu sera exploité par intermédiaire des surfaces de réponses, courbes d'iso-réponses et fonction de désirabilité afin de définir les points optimums pour l'étude d'optimisation.

3.10 Plan de surface de réponse de type Box-Behnken :

Le plan de Box-Behnken est un plan qui conduit directement à un modèle du second degré, il commence à trois facteurs et peut ensuite être utilisé pour quatre, cinq facteurs et plus. Il possède la propriété de séquentialité par rapport aux facteurs, une propriété précieuse quand on veut étudier les deux ou trois facteurs les plus utiles tout en réservant la possibilité d'en étudier d'autres plus tard.

a- Plan de Box-Behnken à 3 facteurs :

Les points expérimentaux sont placés au milieu des arêtes du cube comme l'indique la figure (3.5), Cette disposition a pour conséquence de placer tous les points expérimentaux à égale distance du centre du domaine d'étude, donc sur une sphère. Les plans de Box-Behnken pour 3 facteurs contiennent 12 essais, plus 3 essais au centre du domaine d'étude (qui serviront au calcul de l'erreur expérimentale et le manque d'ajustement) ce qui fait 15 essais au total [57-59].

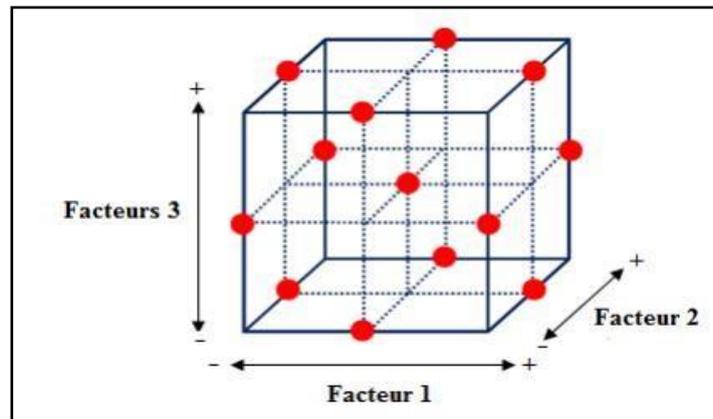


Figure 3.5 : Plan de box Behnken pour 3 facteurs.

b- Modèle mathématique postulé :

$$Y = a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_{11}X_1^2 + a_{22}X_2^2 + a_{33}X_3^2 + a_{12}X_1X_2 + a_{13}X_1X_3 + a_{23}X_2X_3 + e$$

Ce modèle est appelé le modèle à priori ou le modèle postulé. Les modèles établis sont des modèles de prévision valables dans le domaine d'étude, domaine que l'on doit toujours préciser [60]. Le plan de Box-Behnken pour 3 facteurs comporte 13 équations indépendantes, il y'a donc une solution mathématique à ce problème.

3.11 Intérêt des plans d'expériences :

- Possibilité d'étudier un très grand nombre de facteurs ;
- Détection des interactions éventuelles ;
- Détermination des résultats avec une bonne précision ;
- Détermination rapide des facteurs influents avec un minimum d'expériences ;
- Optimisation de l'organisation des essais de façon à obtenir le maximum d'informations avec un minimum d'essais ;
- Minimisation du coût d'obtention d'une information fiable [61].

PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE 4 : MATERIELS ET METHODES

4.1 Introduction :

L'objectif de cette partie est d'optimiser l'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle l'absinthe et la formulation d'une émulsion buvable qui a été réalisé à l'échelle de laboratoire de département de génie des procédés de l'université de Saad Dahleb Blida, en utilisant logiciel MODDE 6.0 pour maximiser l'efficacité du processus tout en minimisant les couts, modéliser la relation entre les variables, évaluer et validé les modèles et en assurant la qualité du produit final.

Le choix de l'absinthe comme plante d'étude est motivé par sa richesse en composée bioactif et l'huile essentielle, ses propriétés thérapeutiques utilisé aussi dans la médecine traditionnelle. De plus sa disponibilité et sa popularité dans certaines régions du monde y compris l'Algérie ce qui facilite son accès pour la recherche.

4.2 Matière végétale utilisée :

La plante *Artemisia absinthium*, également connue sous le nom d'absinthe, a été récoltée dans la région de Khemis Miliana, Cette récolte a été effectuée sur des spécimens frais de la plante. Malgré la difficulté de trouver cette plante en raison de sa similitude avec d'autres plantes, elle a une odeur distincte qui nous a permis de la reconnaître.



Figure 4.1 : Partie aérienne de l'*Artemisia absinthium*.

4.3 Extraction de l'huile essentielle :

La méthode d'extraction de l'huile essentielle utilisée est l'hydrodistillation par chauffage classique. Une tentative d'extraction par micro-ondes a été effectuée mais malheureusement n'a pas donné de résultats.

Pour optimiser les conditions de l'extraction, on a eu recours aux techniques des plans d'expériences qui permettent de planifier les essais et étudier l'influence des paramètres choisis sur le rendement en l'huile essentielle.

4.3.1 Optimisation de l'extraction :

Le défi principal de notre étude réside dans l'optimisation des conditions d'extraction par hydrodistillation. Nous devons trouver le point d'extraction optimal en tenant compte des multiples facteurs affectant ce processus, tout en maximisant la réponse choisie, à savoir le rendement.

Pour ce faire, on a utilisé le logiciel MODDE 6.0. L'objectif visé par cette étude est une modélisation en surface de répons (RSM) par un modèle d'ordre 2 tenant compte de toutes les interactions doubles.

Les facteurs choisis pour cette étude sont :

- La masse de la matière végétale variée entre 50 et 100g.
- Le temps de l'extraction variée entre 20 et 60 min.
- Le rapport solvant/masse variée entre (2-5) ml/g.

Le choix de ces intervalles a été fait après plusieurs essais préliminaires.

Le plan choisi est un plan Box-Behnken. Ce plan comprend 12 essais plus 3 essais au centre du domaine expérimental pour évaluer l'erreur expérimentale et effectuer une analyse de variance du modèle postulé, le nombre total d'essais est de 15.

La matrice expérimentale est présentée sur le tableau (4.1), où les valeurs des facteurs sont présentées en valeurs centrée réduite.

Tableau 4.1 : Matrice d'expérience « Extraction ».

N° d'expérience	Solvant/masse	Masse	Temps
1	-1	-1	0
2	1	-1	0
3	-1	1	0
4	1	1	0
5	-1	0	-1
6	1	0	-1
7	-1	0	1
8	1	0	1
9	0	-1	-1
10	0	1	-1
11	0	-1	1
12	0	1	1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

Le tableau suivant présente le plan des expériences réalisées en valeurs réelles :

Tableau 4.2 : Plan d'expérience « Extraction ».

N° d'expérience	Solvant/masse (ml/g)	Masse(g)	Temps (min)
1	2	50	40
2	5	50	40
3	2	100	40
4	5	100	40
5	2	75	20
6	5	75	20
7	2	75	60
8	5	75	60
9	3,5	50	20
10	3,5	100	20
11	3,5	50	60
12	3,5	100	60
13	3,5	75	40
14	3,5	75	40
15	3,5	75	40

4.3.2 Dispositif expérimental :

L'extraction d'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation classique à une pression atmosphérique selon le montage suivant :

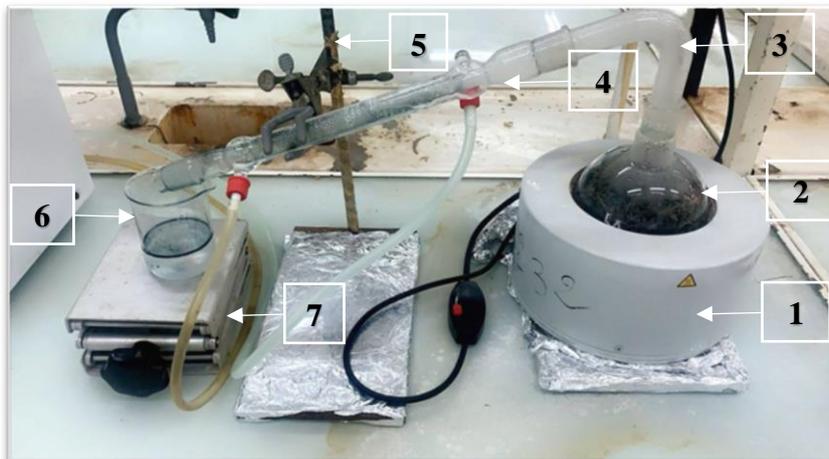


Figure 4.2 : Montage hydrodistillation manipulé.

1 : chauffe ballon.

5 : support.

2 : ballon 1L.

6 : bécher.

3 : coude.

7 : élévateur.

4 : colonne réfrigérant.

4.3.3 Mode opératoire :

Dans cette étude, nous avons utilisé de la matière végétale provenant de la partie aérienne, comprenant des feuilles et des tiges, préalablement pesée entre 50 et 100 grammes. Cette matière végétale a été immergée dans un ballon de 1 litre contenant un volume d'eau distillée compris entre 100 et 500 millilitres.

Le ballon était connecté à un réfrigérant via un coude de distillation. En chauffant le ballon, la vapeur d'eau produite a entraîné les constituants volatils de la matière végétale. Après leur refroidissement et leur condensation dans le réfrigérant, ces composés ont été collectés dans un récipient à différents intervalles de temps, allant de 20 à 60 minutes après la récupération de la première goutte.

Cette méthode a permis d'obtenir deux phases distinctes : une phase aqueuse appelée l'hydrolat, et une phase organique contenant l'huile essentielle. Pour séparer ces deux phases, nous avons utilisé une seringue pour récupérer l'huile essentielle, que nous avons ensuite pesée afin de calculer le rendement de l'extraction par rapport à la masse initiale de matière végétale.

Enfin, pour préserver leur intégrité, l'huile essentielle et l'hydrolat ont été conservés dans un réfrigérateur, à une température de 4°C et à l'abri de la lumière, en vue d'une analyse ultérieure.

4.3.4 Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle :

Dans cette partie, nous étudions les propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L, obtenue par hydro distillation. Ces caractéristiques (aspect, couleur, odeur) sont essentielles pour évaluer sa qualité.

4.3.5 Calcul du rendement en huile essentielle :

Le rendement en huile essentielle est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle extraite et la masse de la matière végétale, il est exprimé en pourcentage % et calculé par la formule suivante [62] :

$$R(\%) = \frac{M(\text{HE})}{M(\text{MV})} \times 100$$

Ou :

R(%) : Rendement en huile essentielle (en g) pour 100 g de matière sèche.

M(HE) : Masse de l'huile essentielle (g).

M(MV) : Masse de la matière végétale sèche utilisée (g).

4.4 Formulation d'une émulsion buvable :

Dans cette section, nous avons examiné les diverses techniques de formulation et les méthodes de caractérisation d'une émulsion buvable à base de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* L, extrait dans la première étape

4.4.1 Étude de pré-formulation :

4.4.1.1 Matériels utilisés :

➤ **Matériel utilisé pour la préparation :**

- Bécher de 250 ml.
- Éprouvette graduée.
- Balance électronique.
- Plaque d'agitation.
- Homogénéisateur.

➤ **Matériel utilisé pour la caractérisation :**

- Rhéomètre : Un rhéomètre rotatif type ANTON PAAR PHYSICA RHEOLAB MCR 302, avec un système de mesure de type « cone-plan » de 60 mm de diamètre, utilisé pour étudier le comportement rhéologique de l'émulsion buvable.



Figure 4.3 : Rhéomètre ANTON PAAR Modular Compact Rhéomètre MCR 302.

- pH mètre de type HI8424N - HANNA INSTRUMENTS.
- Centrifugeuse : Une centrifugeuse de type Benchtop Low Speed centrifuge, utilisée à vitesse constante (6000 tr/min) pour rechercher la coalescence des gouttes ou le déphasage et d'éliminer les particules indésirables afin d'évaluer la stabilité de l'émulsion.

Ces équipements ont été sélectionnés pour assurer une caractérisation approfondie de l'émulsion buvable, répondant aux exigences de l'étude et permettant une analyse précise de ses propriétés physico-chimiques et de sa stabilité.

4.4.1.2 Produits utilisés :

- **L'eau déminéralisée :** Liquide incolore et inodore, (Milieu de dispersion)
- **Lécithine de soja (TA) :** La lécithine de soja est un émulsifiant végétal très intéressant pour ses propriétés émoullientes et son excellente affinité avec la peau. Les lécithines sont des émulsifiants naturels présents notamment dans les fèves de soja, les graines de tournesol et de colza, mais aussi dans le jaune d'œuf. Les lécithines couvrent une large gamme de HLB variant de 2 à 12, ce qui permet de choisir celle qui sera la plus adaptée au type d'émulsion choisie. La lécithine que nous avons utilisée est une lécithine de soja

déshuilée contenant 95% de phospholipide avec une HLB=8, soluble dans l'eau. Incorporée dans les émulsions, elle en augmentera la stabilité.

- **HEC** : Hydroxyéthylcellulose, est un polymère dérivé de la cellulose soluble dans l'eau. Il est largement utilisé dans diverses industries, y compris les produits pharmaceutiques, cosmétiques, alimentaires et de soins personnels. Le HEC agit principalement comme un agent épaississant, stabilisant et liant. En raison de sa capacité à former des gels transparents et à stabiliser les émulsions, il est souvent utilisé dans les formulations de produits tels que les crèmes, les lotions, les gels, les shampooings et les produits pharmaceutiques topiques. En outre, le HEC est souvent utilisée comme excipient dans les formulations de sirops et de suspensions buvables pour réguler la viscosité et améliorer la stabilité du produit.
- **Glucose** : Le glucose est un édulcorant, une poudre fine, sans odeur et de couleur blanche, qui se dissout dans l'eau. Il est utilisé dans la formulation pour ajouter une saveur sucrée à l'émulsion buvable.
- **Conservateur (méthylparaben)** : Le méthylparaben est un composé chimique couramment utilisé dans les produits cosmétiques, pharmaceutiques et alimentaires pour ses propriétés antimicrobiennes. Il appartient à la famille des parabènes, qui sont des esters de l'acide para-hydroxybenzoïque. Le méthylparaben est souvent ajouté aux formulations pour prolonger la durée de conservation des produits en inhibant la croissance des bactéries, des levures et des moisissures.
- **Huile essentielle d'Artemisia absinthium L.** Obtenue par extraction dans la première partie de ce travail.

4.4.2 Etude d'optimisation :

L'objectif de notre travail est d'optimiser la formulation d'une émulsion buvable dotée de propriétés anti-inflammatoires et antimicrobiennes et d'utiliser des techniques de planification expérimentale pour rationaliser les essais de formulation et minimiser leur nombre.

Les facteurs choisis pour cette étude sont :

- HEC variée entre 0,1% et 0,3%.
- Lécithine de soja variée entre 0,3% et 0,5%.
- Huile essentielle variée entre 1% et 2%.

La Modélisation en Surface de Réponse (RSM) utilise un plan de mélange de type D-optimal pour la matrice d'expériences. Cette matrice, générée par l'algorithme du logiciel MODDE 6.0, comprend 21 essais répartis sur 3 facteurs, avec 4 essais au centre pour évaluer la reproductibilité. Le plan D-optimal permet de réaliser un nombre minimal d'essais tout en maximisant l'information et minimisant la variabilité.

Tableau 4.3 : Matrice d'expérience « Formulation ».

N° d'expérience	HEC	TA	HE
1	1	-1	-1
2	1	1	-1
3	-1	-1	1
4	-1	1	1
5	1	1	1
6	-1	-1	-0,333
7	-1	1	-0,333
8	-1	-0,333	-1
9	-1	0,333	-1
10	1	-1	0,333
11	1	1	0,333
12	1	0,333	-1
13	1	-0,333	1
14	-0,333	-1	-1
15	0,333	-1	1
16	-0,333	1	-1
17	0,333	1	1
18	0	0	0
19	0	0	0
20	0	0	0
21	0	0	0

Tableau 4.4 : Plan d'expérience « Formulation ».

N° d'expérience	HEC (%)	TA(%)	HE(%)
1	0,3	0,3	1
2	0,3	0,5	1
3	0,1	0,3	2
4	0,1	0,5	2
5	0,3	0,5	2
6	0,1	0,3	1,33333
7	0,1	0,5	1,33333
8	0,1	0,366667	1
9	0,1	0,433333	1
10	0,3	0,3	1,66667
11	0,3	0,5	1,66667
12	0,3	0,433333	1
13	0,3	0,366667	2
14	0,166667	0,3	1
15	0,233333	0,3	2
16	0,166667	0,5	1
17	0,233333	0,5	2
18	0,2	0,4	1,5
19	0,2	0,4	1,5
20	0,2	0,4	1,5
21	0,2	0,4	1,5

4.4.3 Mode opératoire de préparation d'émulsion buvable :

La phase aqueuse est préparée en dissolvant du tensioactif (lécithine de soja), du 0.05g glucose et de l'HEC dans de l'eau déminéralisée, puis en agitant le mélange sur un agitateur magnétique jusqu'à ce que tous les composants soient complètement dissous.

La phase organique : consiste en un mélange d'huile essentielle d'Artemisia Absinthium L extraite précédemment et d'huile végétale.

En outre, un conservateur est ajouté à raison de 0,1% pour 20 g d'émulsion afin de protéger notre produit.

Les phases aqueuse et organique sont mécaniquement agitées, à une fraction volumique 50/50, puis homogénéisées à l'aide d'un homogénéiseur de type ULTRA DAIHAN WISE TIS HG-15A, garantissant ainsi une stabilité optimale de l'émulsion formulée.



Figure 4.4 : Préparation de l'émulsion buvable à l'aide d'un homogénéisateur.

4.4.4 Caractérisation de l'émulsion buvable :

4.4.4.1 Caractérisation organoleptique : Les propriétés organoleptiques d'une émulsion buvable font références aux caractéristiques sensorielles telles que l'aspect visuel, l'odorat, le goût et la texture. Ces propriétés sont essentielles pour assurer son acceptabilité pour le consommateur et son efficacité en tant que produits pharmaceutiques.

4.4.4.2 Caractérisation physico-chimique :

a. Caractérisation rhéologique sous écoulement : L'analyse des courbes d'écoulement en régime continu sous cisaillement variable permet de déterminer la viscosité apparente en fonction de la vitesse de cisaillement. Les courbes d'écoulement sont obtenues en faisant varier la vitesse de cisaillement en rampe logarithmique de $0,001$ à 1000 s^{-1} , avec 31 points de mesure.

- b. Mesure du pH :** Étant donné que le produit est destiné à une consommation directe par les humains, la mesure du pH est un paramètre essentiel à contrôler.



Figure 4.5 : pH-mètre de type HI8424N - HANNA INSTRUMENTS.

- c. Évaluation de la stabilité et du vieillissement accéléré :** Les principaux phénomènes d'instabilité des émulsions buvables sont évalués dans une éprouvette graduée en observant les éventuels changements à intervalles réguliers sous des conditions physiques strictes. La coalescence des gouttes et la séparation des phases sont examinées par centrifugation à 6000 tr/mn pendant 10 minutes.



Figure 4.6 : Centrifugation des émulsions buvables préparée.

CHAPITRE 5 : RESULTATS ET DISCUSSION

5.1 Introduction :

Ce chapitre expose les résultats des deux volets de notre recherche : l'extraction par hydrodistillation et la caractérisation de l'huile essentielle de l'absinthe, ainsi que la formulation d'une émulsion buvable. La démarche adoptée pour les deux étapes de notre étude est celle de la planification expérimentale à l'aide du logiciel MODDE 6.0. Nous présentons les rendements d'extraction ainsi que les paramètres de formulation de l'émulsion buvable et ses propriétés physico-chimiques.

5.2 Caractérisation organoleptique de l'huile essentielle :

L'huile essentielle obtenue par hydrodistillation présente une forte odeur caractéristique de la plante, avec une apparence liquide d'un bleu foncé, comme illustré sur la figure ci-dessous :



Figure 5.1 : Huile essentielle de l'Absinthe.

5.3 Optimisation des paramètres d'extraction de l'Artemisia absinthium :

Le tableau suivant regroupe les rendements obtenus expérimentalement selon la matrice du plan Box-Behnken donnée par le logiciel MODDE 6.0 qui comprend 15 séries d'expériences :

Tableau 5.1 : Résultats des essais d'extraction.

N° D'expérience	Solvant/Masse (ml/g)	Masse (g)	Temps (min)	Rendement (%)
1	2	50	40	0,28
2	5	50	40	0,72
3	2	100	40	0,35
4	5	100	40	0,74
5	2	75	20	0,55
6	5	75	20	0,13
7	2	75	60	0,13
8	5	75	60	1,1
9	3,5	50	20	0,54
10	3,5	100	20	0,58
11	3,5	50	60	0,56
12	3,5	100	60	0,86
13	3,5	75	40	0,88
14	3,5	75	40	0,94
15	3,5	75	40	0,49

Le tableau montre que le domaine de variation du rendement de l'extraction varie entre 0,13% et 1,1% pour les limites choisies de masse, temps et du ratio solvant/masse. Ce rendement il est relativement acceptable pour une huile essentielle. Des rendements de 0,5 à 0,9% ont été obtenus à partir d'Artemisia absinthium de l'ouest d'Algérie dans des études antérieures [63-64].

Le meilleur rendement (1,1%) trouvé dans notre étude est supérieur à ceux rapportés dans les études des différentes régions en Algérie ; il est de 0,16% dans la région de Djelfa [65] ; 0,5% a cherchell wilaya de Tipaza [66].

Ces résultats permettent la modélisation de la réponse en fonction des facteurs variés.

5.3.1 Résultats de la modélisation

5.3.1.1 Analyse statistique :

Avant d'exploiter les résultats de la modélisation, il est nécessaire d'abord de voir la qualité statistique du modèle mathématique obtenu. L'histogramme ci-dessous montre les valeurs des deux coefficients statistiques, à savoir R^2 et Q^2 .

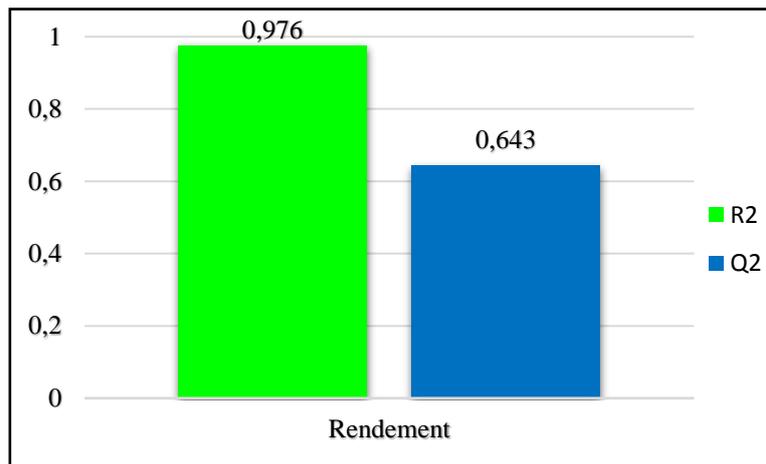


Figure 5.2 : Histogramme Représentant des coefficients d'ajustement du modèle mathématique R^2 et Q^2 .

Le coefficient de détermination R^2 mesure l'adéquation du modèle aux données observées, avec une valeur proche de 1 indiquant un ajustement optimal.

Le coefficient de prédiction Q^2 doit être supérieur à 0,1 pour être significatif et dépasser 0,5 pour avoir un bon pouvoir prédictif.

Dans ce modèle, le coefficient de détermination R^2 est égal à 0,976 et le coefficient de prédiction est égal à 0,643, ce qui signifie que le modèle est bon.

L'analyse de la variance ANOVA s'avère aussi une étape nécessaire de l'analyse statistique de la modélisation. Le tableau (5.2) résume les résultats de cette analyse.

Tableau 5.2 : Table de l'ANOVA.

Rendement	DF	SS	MS(variance)	F	p	SD
Total	14	6,1524	0,439457			
Constant	1	4,99211	4,99211			
Total Corrected	13	1,16029	0,0892528			0,298752
Regression	9	1,13306	0,125896	18,4971	0,006	0,354818
Residual	4	0,027225	0,00680624			0,0824999
Lack of Fit	3	0,025425	0,00847499	4,70832	0,324	0,0920597
Pure Error	1	0,0018	0,0018			0,0424264

Où on définit :

DF : Degré de liberté qui détermine la distribution statistique.

SS : Sommes des carrées qui détermine l'écart entre chaque valeurs.

MS : La variance signifie la mesure de la variabilité moyenne.

F : Rapport de Fisher évaluer la significativité du modèle.

P : La probabilité associe à la statistique de test F.

SD : L'écart type représente la dispersion des données par rapport à la moyenne.

L'analyse de régression montre que les carrés des moyennes des modèles surpassent ceux des résidus (Tableau 5.2) ainsi le rapport de Fisher (F) indique la valeur de 18,4971 correspondant à une probabilité de 0,006 ($p < 0,05$) ce qui confirme la significativité du modèle. Aussi le rapport entre le carré moyen dû au défaut d'ajustement et celui dû à l'erreur pure est utilisé pour évaluer l'ajustement du modèle aux observations, avec un rapport F de 4,70832 et une probabilité de 0,324, le défaut d'ajustement du modèle n'est pas significatif ($p > 0,05$).

Donc le modèle est jugé valide et apte à expliquer les variations observées dans les données expérimentales.

5.3.1.2 Modélisation mathématique :

Le modèle mathématique liant la réponse avec les trois facteurs du procédé d'extraction étudié est :

$$Y = 0,904224 + 0,136659 X_1 + 0,0425823 X_2 + 0,0841743 X_3 - 0,16055 X_1^2 - 0,0724976 X_2^2 - 0,0976554 X_3^2 - 0,00776844 X_1 X_2 + 0,215963 X_1 X_3 + 0,0403959 X_2 X_3.$$

X_1 : Valeur centrée réduite du facteur rapport solvant/masse.

X_2 : Valeur centrée réduite du facteur masse.

X_3 : Valeur centrée réduite du facteur temps.

Ce modèle va nous permettre d'évaluer les différents effets des facteurs ainsi que tracer les différentes courbes d'effets.

Les effets principaux les plus importantes sont ceux des facteurs le rapport (solvant/masse) et le Temps.

5.3.2 Etude des Effets des facteurs sur le rendement :

L'histogramme présenté sur la figure (5.3) permet d'estimer les différents effets des facteurs, aussi bien les effets principaux que les effets quadratiques et d'interaction double entre les facteurs.

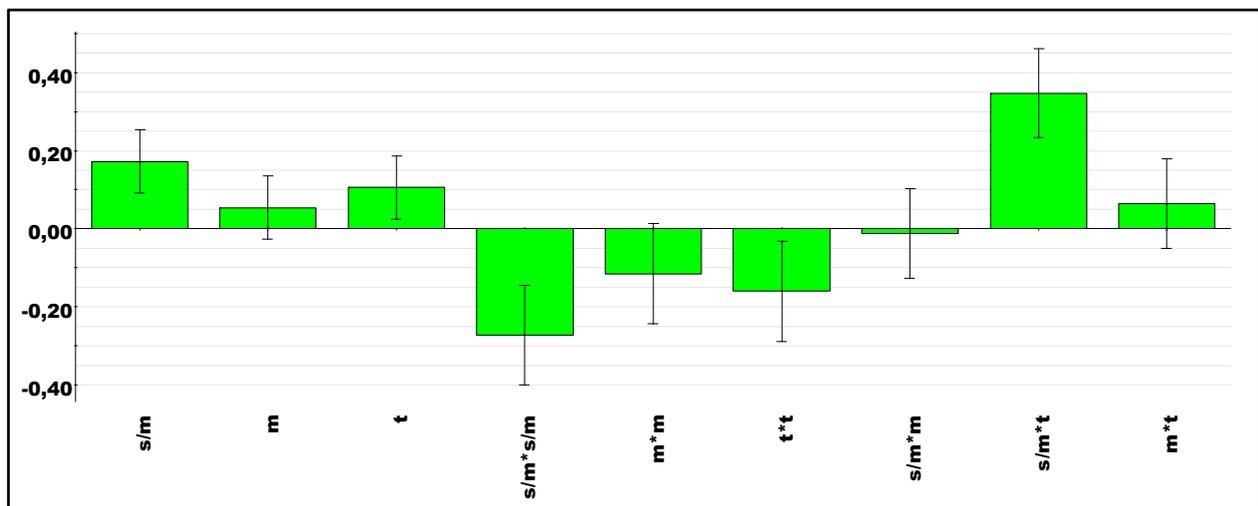


Figure 5.3 : Effets des facteurs sur le rendement et leurs interactions.

Au regard de cette figure, on peut tirer les informations suivantes :

- L'effet principal le plus important est celui du rapport solvant/masse de matière végétale et il est positif, c'est-à-dire que son augmentation permet l'augmentation du rendement.

- Une interaction positive importante entre le rapport s/m et le temps ($X1*X3$) influent positivement sur la réponse. Cet effet d'interaction positive signifie que lorsqu'on augmente à la fois la quantité de solvant et le temps d'extraction, le rendement de l'huile essentielle augmente également. Cela peut être dû à une meilleure dissolution des composés à extraire dans le solvant avec un temps d'extraction prolongé.
- L'interaction entre le rapport s/m et la masse ($X1*X2$) est négligeable.

Les trois facteurs ont des effets quadratiques négatifs, comme le montre la figure (5.4).

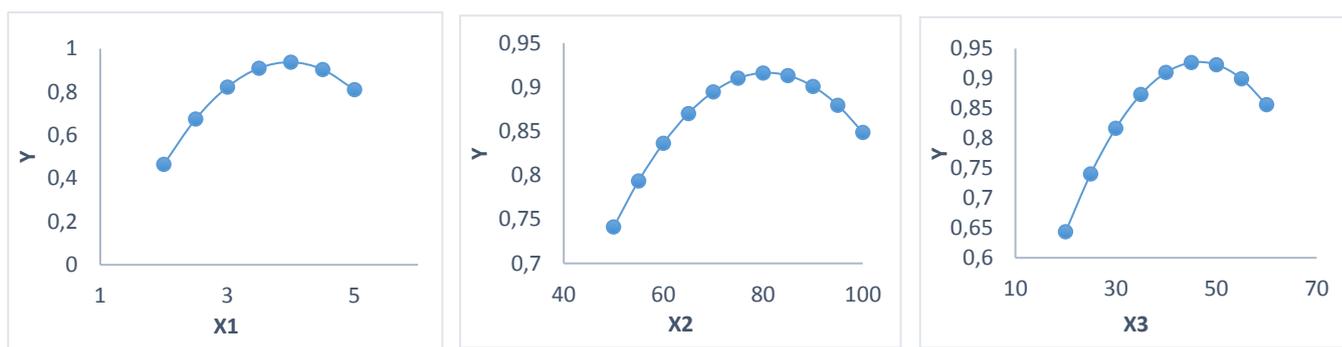


Figure 5.4 : Effets quadratiques des différents facteurs sur la réponse.

Cela signifie que chacun des facteurs présente un seuil maximal donnant un meilleur rendement, lorsqu'on le dépasse le rendement diminue.

Lorsque les deux facteurs, le rapport solvant/masse et le temps, sont augmentés simultanément, cela conduit à un excellent rendement en huile essentielle. À l'inverse, une diminution de ces facteurs entraîne un rendement très faible. De plus, en diminuant le temps et en augmentant le rapport solvant/masse, il reste un excès de mélange à extraire dans le ballon, ce qui nécessite de prolonger le temps d'extraction pour terminer le processus. Par contre, en augmentant le temps et en diminuant le rapport solvant/masse, cela entraîne des brûlures dans le mélange, aboutissant à un gaspillage des matières premières de la plante.

Les contours représentent l'évaluation des deux facteurs « rapport solvant/masse et le temps » tout en maintenant le 3ème facteurs constant (la masse) :

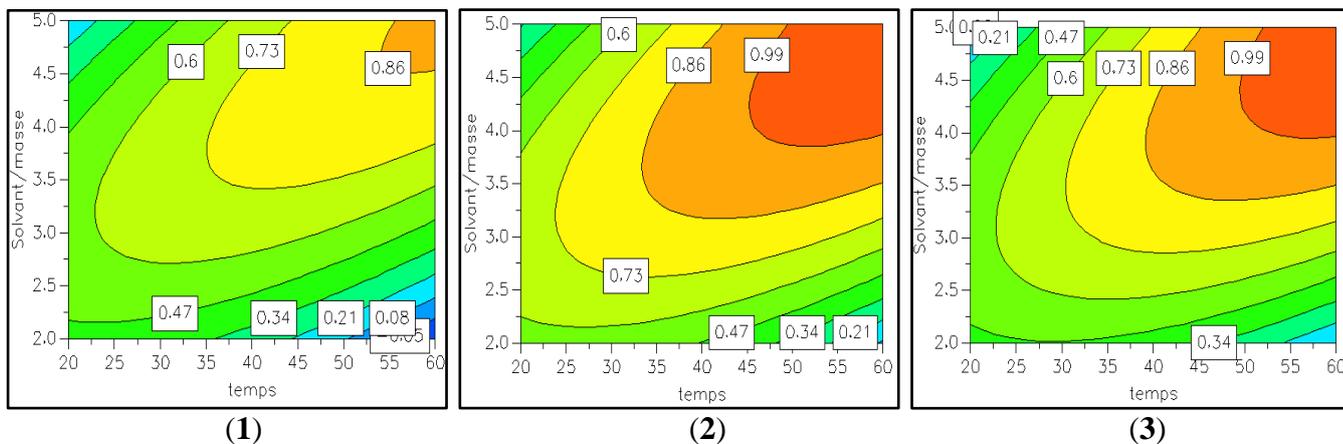


Figure 5.5 : Evaluation du Rendement en fonction de ratio s/m et de temps en fixant la masse, (1) m = 50g, (2) m = 75g, (3) m = 100g.

La première figure, lorsque la masse fixe est de 50g à son niveau le plus bas montre qu'on obtient un rendement maximal supérieur à 0,86% quand le rapport solvant/masse et la durée d'extraction sont maximisés. Dans les 2ème et 3ème figures lorsque la masse maintenue dans un intervalle de [75 - 100g] on constate qu'on peut dépasser un rendement exceptionnel de 0.99% uniquement lorsque le rapport (solvant/masse de la matière végétale) et le temps sont maximisée.

5.3.3 Conditions optimales :

Suite aux interprétations des différents effets des facteurs variés, une optimisation des meilleures conditions d'extraction donnant un rendement maximal est effectuée par le logiciel MODDE 6.0. Selon le logiciel l'expérience optimale implique un rapport de solvant/masse de la matière végétale égale à 4,9 ml /g, une masse de 86,6 g et un temps d'extraction d'environ 60 min. présentée sur le tableau (5.5).

Tableau 5.3 : Les conditions des réponses optimales.

Rapport solvant/masse (ml/g)	Masse (g)	Temps (min)	Rendement(%)
4,9271	86,6075	59,9986	1,1291

5.4 Résultats de la caractérisation des émulsions :

En émulsifiant les deux phases de l'émulsion par homogénéisation on observe la disparition de la couleur bleue dominante de l'huile essentielle. Les émulsions préparées sont blanchâtres, pas trop liquides où l'odeur caractéristique de l'huile reste éminente. La figure ci-dessous présente la préparation de la solution buvable avant et après émulsification.



Figure 5.6 : La solution buvable avant et après émulsification.

Après l'émulsification, la mesure de pH de tout les essais a donné une valeur comprise entre 7 et 8. La neutralité du pH rend l'émulsion adaptée à la consommation humaine.

5.5 Optimisation des paramètres de formulation :

Les résultats de la caractérisation rhéologique des émulsions formulées montrent des courbes d'écoulement typiques d'un fluide rhéofluidifiants caractérisé par un premier plateau newtonien aux faibles vitesses de cisaillement, où la viscosité résiste à l'écoulement et reste constante, et un second plateau newtonien à grande vitesse de cisaillement. La figure (5.7) présente une courbe d'écoulement d'un échantillon typique des émulsions préparées.

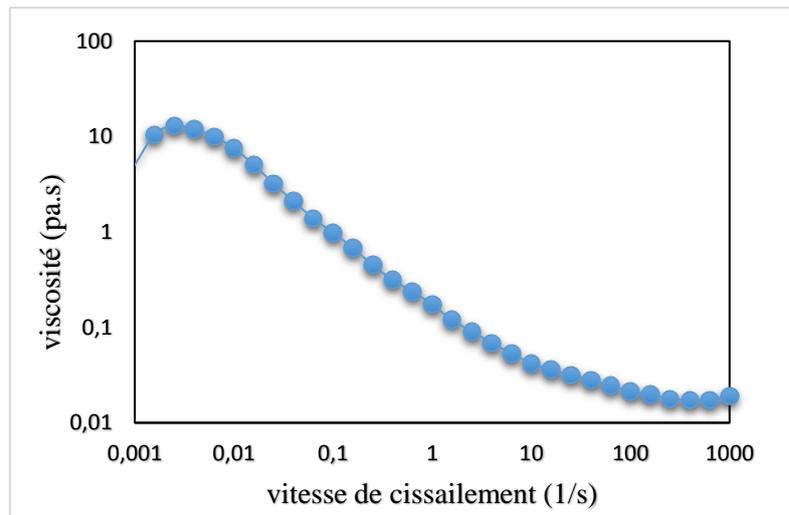


Figure 5.7 : Courbe d'écoulement d'un essai type.

Pour faire ressortir des paramètres d'écoulement comparables entre les essais, il faut les modéliser par un modèle adéquat. Le modèle de Carreau I semble le plus approprié à ce genre de comportement. Les courbes d'écoulement de toutes les émulsions formulées ont été modélisées par logiciel STATISTICA. Le modèle de Carreau I utilisé s'écrit comme suit :

$$\frac{\eta - \eta_{\infty}}{\eta_0 - \eta_{\infty}} = \frac{1}{(1 + (k\dot{\gamma})^2)^p}$$

Avec :

η : viscosité apparente (Pa.s).

$\dot{\gamma}$: vitesse de cisaillement (s^{-1}).

η_0 : viscosité apparente à cisaillement nul, Lorsque les macromolécules sont au repos.

η_{∞} : viscosité apparente à cisaillement infini, Lorsque les macromolécules sont complètement dispersées (Pa.s).

k : Coefficient de consistance c'est le temps caractéristique nécessaire pour obtenir un début de déstructuration et donc un comportement rhéofluidifiants de la suspension de l'émulsion.

p : Indice de loi de puissance exposante dont la valeur théorique et comprise entre 0 et 1.

La viscosité au repos donné par le modèle de Carreau a été prise comme réponse dans le plan d'expériences, traduisant la structure des émulsions au repos.

Le tableau suivant présente le plan d'expériences avec les toutes les réponses :

Tableau 5.4 : Plan d'expérience avec toutes les réponses.

N° d'expérience	HEC (%)	TA (%)	HE (%)	Viscosité (Pa.s)
1	0,3	0,3	1	3,29
2	0,3	0,5	1	5,57
3	0,1	0,3	2	3,72
4	0,1	0,5	2	5,65
5	0,3	0,5	2	10,99
6	0,1	0,3	1,33333	4,33
7	0,1	0,5	1,33333	3,57
8	0,1	0,366667	1	3,41
9	0,1	0,433333	1	5,71
10	0,3	0,3	1,66667	3,35
11	0,3	0,5	1,66667	2,2
12	0,3	0,433333	1	0,37
13	0,3	0,366667	2	3,02
14	0,166667	0,3	1	6,48
15	0,233333	0,3	2	3,59
16	0,166667	0,5	1	2,54
17	0,233333	0,5	2	3,28
18	0,2	0,4	1,5	6,98
19	0,2	0,4	1,5	7,06
20	0,2	0,4	1,5	7,85
21	0,2	0,4	1,5	11,06

Malheureusement, les valeurs de R^2 et Q^2 obtenus n'étaient pas satisfaisants, comme le montre les histogrammes ci-dessous.

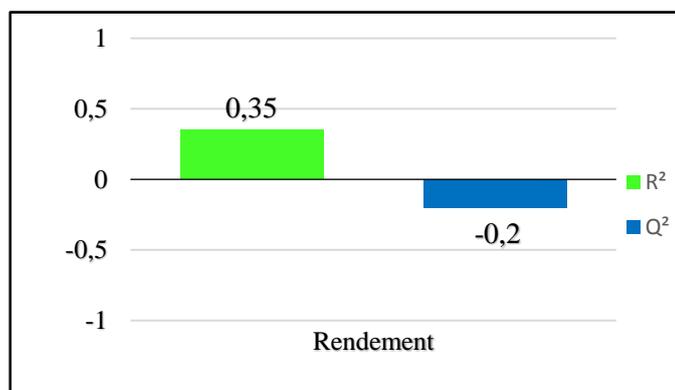


Figure 5.8 : Histogramme Représentant les coefficients R^2 et Q^2 .

Afin d'améliorer la qualité statistique du modèle exprimant la viscosité des émulsions en fonction des différents facteurs étudiés, on a dû réduire la matrice d'expériences à 15 essais. Au fait, parmi les émulsions préparées, y'en avait qui se déstabiliser instantanément et donc les résultats de la rhéologie n'étaient pas si fiables, ce sont les essais qu'on a éliminé de la matrice.

Le tableau (5.5) suivant présente la nouvelle matrice D-Optimal avec toutes les réponses.

Tableau 5.5 : Résultats des essais de formulation.

N° d'expérience	HEC (%)	TA (%)	HE (%)	Viscosité (Pa.s)
1	0,3	0,3	1	3,29
2	0,3	0,5	1	5,57
3	0,1	0,3	2	3,72
4	0,1	0,5	2	5,65
5	0,1	0,5	1,333	3,57
6	0,1	0,3666	1	3,41
7	0,1	0,4333	1	5,71
8	0,3	0,3	1,666	3,35
9	0,3	0,5	1,666	2,2
10	0,2333	0,3	2	3,59
11	0,1666	0,5	1	2,54
12	0,2333	0,5	2	3,28
13	0,2	0,4	1,5	6,98
14	0,2	0,4	1,5	7,06
15	0,2	0,4	1,5	7,85

Le tableau montre que le domaine de variations de la viscosité de la formulation varie entre 2,2 et 7,85 (Pa.s) pour les limites choisies de HEC, TA et du L'huile essentielle.

5.5.1 Résultats de la modélisation :

5.5.1.1 Analyse statistique :

Les valeurs des coefficients de détermination sont présentées sur la figure (5.9), où la corrélation exprimée par R^2 est égale à 0,97 et la prédiction exprimée par Q^2 est égal à 0.627, ce qui signifie que le modèle est bon.

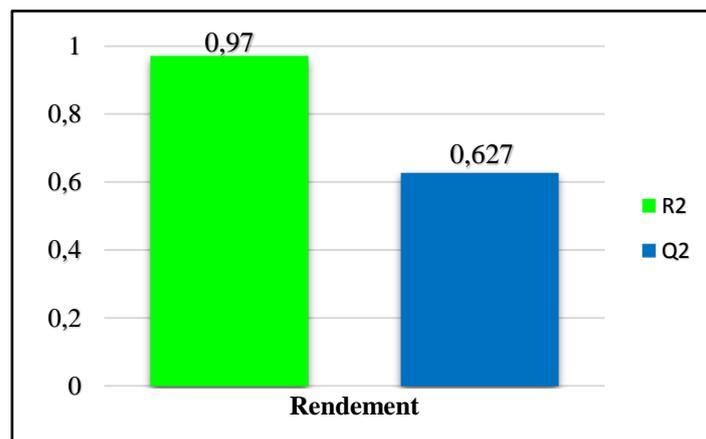


Figure 5.9 : Histogramme Représentant les coefficients R^2 et Q^2 après la réduction de la matrice d'expériences.

Les résultats de l'analyse de la variance ANOVA présentés sur le tableau (5.6) s'avèrent satisfaisant. L'analyse de régression révèle que les carrés des moyennes des modèles dépassent ceux des résidus, et le rapport de Fisher (F) montre une valeur de 17,9896, avec une probabilité de 0,003 ($p < 0,05$), confirmant ainsi la signification du modèle. De plus, le rapport entre le carré moyen dû au défaut d'ajustement et celui dû à l'erreur pure est utilisé pour évaluer l'adéquation du modèle aux observations. Avec un rapport F de 1,26579 et une probabilité de 0,470, le défaut d'ajustement du modèle n'est pas significatif ($p > 0,05$). Par conséquent, le modèle est considéré comme valide et capable d'expliquer les variations observées dans les données expérimentales.

Tableau 5.6 : Table de l'ANOVA.

Y	DF	SS	MS (variance)	F	p	SD
Total	15	350,934	23,3956			
Constant	1	306,185	306,185			
Total Corrected	14	44,7492	3,19637			1,78784
Régression	9	43,4087	4,82318	17,9896	0,003	2,19617
Résiduel	5	1,34054	0,268109			0,517792
Lack of Fit	3	0,878078	0,292693	1,26579	0,470	0,541011
Pure Error	2	0,462467	0,231233			0,480867

5.5.1.2 Modélisation mathématique :

Le modèle mathématique liant la réponse, à savoir la viscosité des émulsions à cisaillement nul, avec les trois facteurs étudiés est :

$$Y = 7,29661 + 0,833664 X_1 + 1,07734 X_2 + 1,10509 X_3 + 0,68654 X_1^2 - 5,74881 X_2^2 + 0,739943 X_3^2 - 1,11818 X_1 X_2 - 1,58318 X_1 X_3 - 1,06898 X_2 X_3.$$

X_1 : Valeur centrée réduite du facteur HEC.

X_2 : Valeur centrée réduite du facteur TA.

X_3 : Valeur centrée réduite du facteur HE.

Grâce à ce modèle, nous pourrions évaluer les divers effets des facteurs et tracer les courbes d'effets correspondantes. Les facteurs les plus significatifs en termes d'effets principaux sont l'HE et le TA.

5.5.2 Etude des Effets des facteurs sur la viscosité :

L'histogramme illustré dans la figure (5.10) fournit une estimation des divers effets des facteurs, couvrant à la fois les effets principaux, les effets quadratiques et les interactions doubles entre les facteurs.

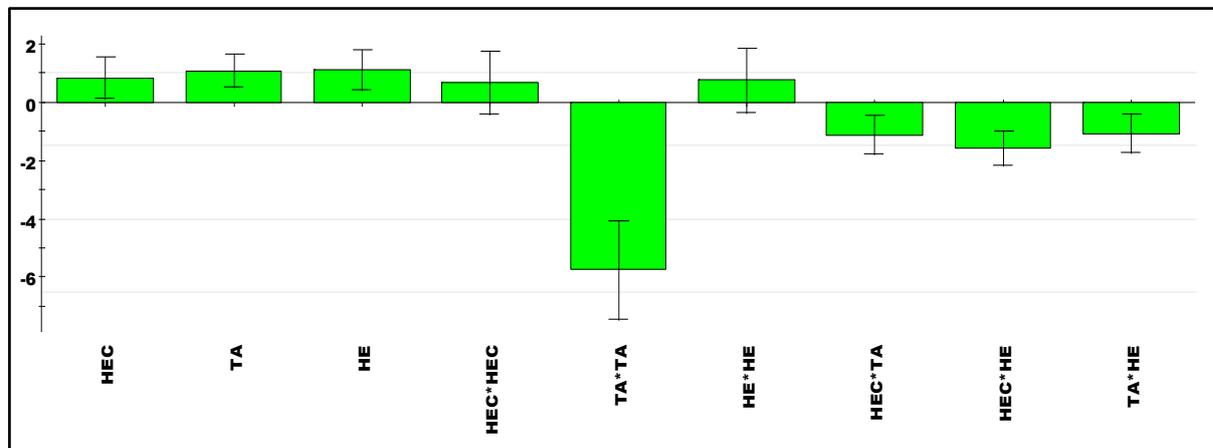


Figure 5.10 : Effets des facteurs sur la viscosité et leurs interactions.

À partir de cette figure, les informations suivantes peuvent être déduites :

- Les effets principaux des trois facteurs sont tous positifs, ce qui signifie que l'augmentation de chaque facteur individuellement entraîne une augmentation de la viscosité de l'émulsion. Par exemple, une augmentation de la concentration d'huile essentielle (facteur HE), du tensioactif (lécithine de soja), ou de la concentration de HEC (facteur HEC) conduirait à une augmentation de la viscosité de l'émulsion. Cela suggère que ces facteurs ont un effet bénéfique sur la stabilité de l'émulsion en augmentant sa viscosité, ce qui peut aider à prévenir la séparation des phases et à maintenir une distribution homogène des particules.
- Les courbes d'effet tracées sur la figure (5.11) permettent de visualiser l'effet quadratique positif des deux facteurs HEC et HE. On peut observer comment la viscosité évolue plus rapidement lorsque le niveau du facteur augmente.

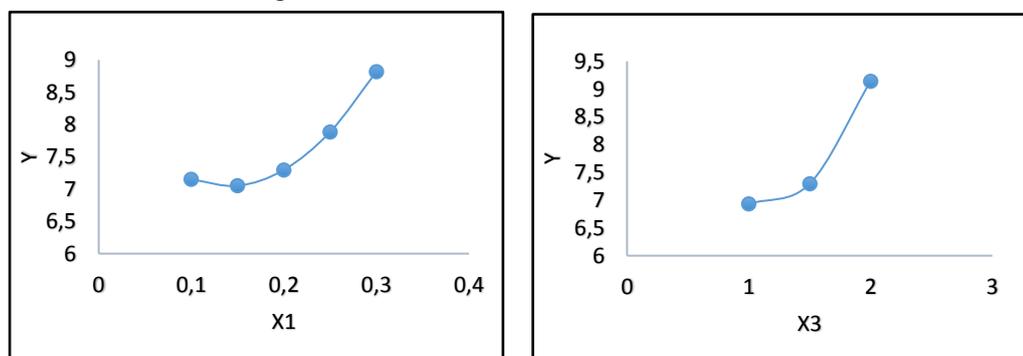


Figure 5.11 : Effets principaux des facteurs X1 et X3 sur la réponse.

- Par contre le facteur TA a un effet non monotone traduit par son effet quadratique négatif ($-5,74881$). A faible concentration, l'ajout de TA fait augmenter la viscosité. A 0,4%, la viscosité atteint une valeur maximale au-delà de laquelle la viscosité chute.

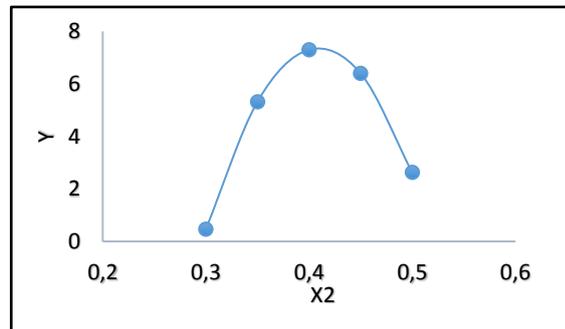


Figure 5.12 : Effet principal du facteur X2 sur la réponse.

Les effets d'interactions entre les facteurs sont négatifs, comme montre les figures ci-dessous.

- Il est observé que le tensioactif (TA) et le viscosifiant HEC ont des rôles similaires, tous les deux contribuent à l'augmentation de la viscosité. Lorsque le TA est fixé à sa valeur maximale, l'effet du HEC devient négligeable. Cela signifie que les gouttelettes huileuse sont totalement couverte et l'émulsion est bien stabilisée d'où le HEC rajouté perd son effet stabilisant. En revanche, si le TA est à sa valeur minimale, la viscosité dépendra de la valeur de HEC qui jouera son rôle stabilisant.

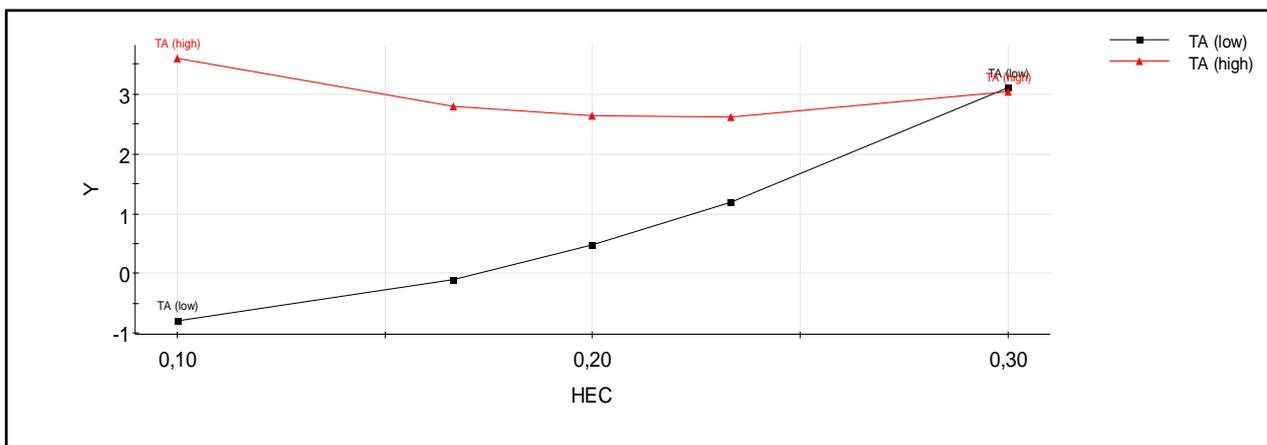


Figure 5.13 : Effet d'interaction de HEC et TA sur la réponse.

- On constate que l'augmentation de la concentration d'huile essentielle entraîne une augmentation de la viscosité, tandis que l'effet de HEC devient négligeable en comparaison avec celui de l'HE. Cela se traduit par une forte interaction marquée entre les deux courbes, comme illustré dans la figure (5.14).

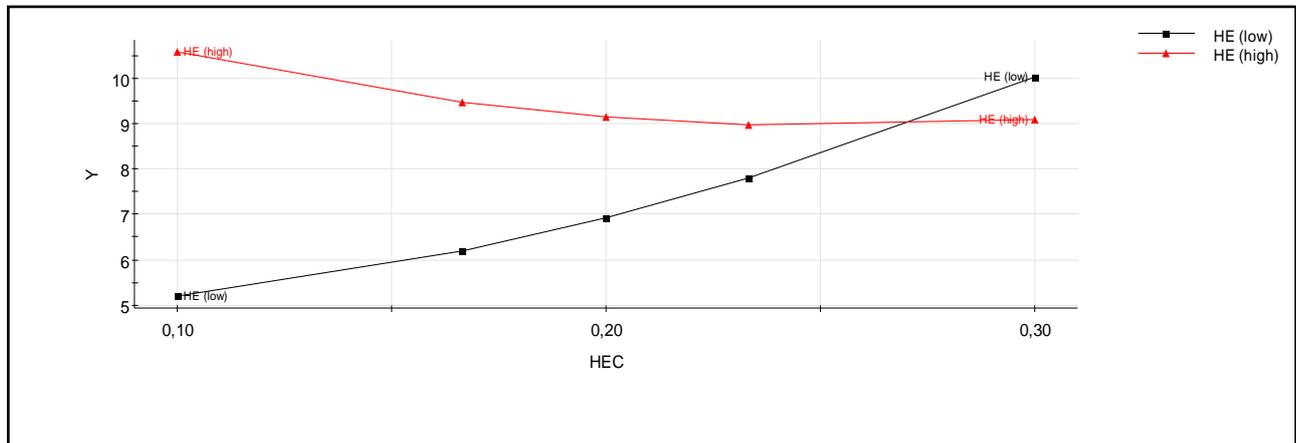


Figure 5.14 : Effet d'interaction de HEC et HE sur la réponse.

- On remarque que les courbes d'effet d'interaction des deux facteurs huile essentielle et tensioactif présente un seuil maximal figure (5.15), ce qui conduit à la saturation des gouttelettes traduite par une viscosité élevée. Un excès de tensioactif favorisera la chute de la viscosité et le relâchement de la structure, entraînant ainsi l'instabilité de l'émulsion buvable.

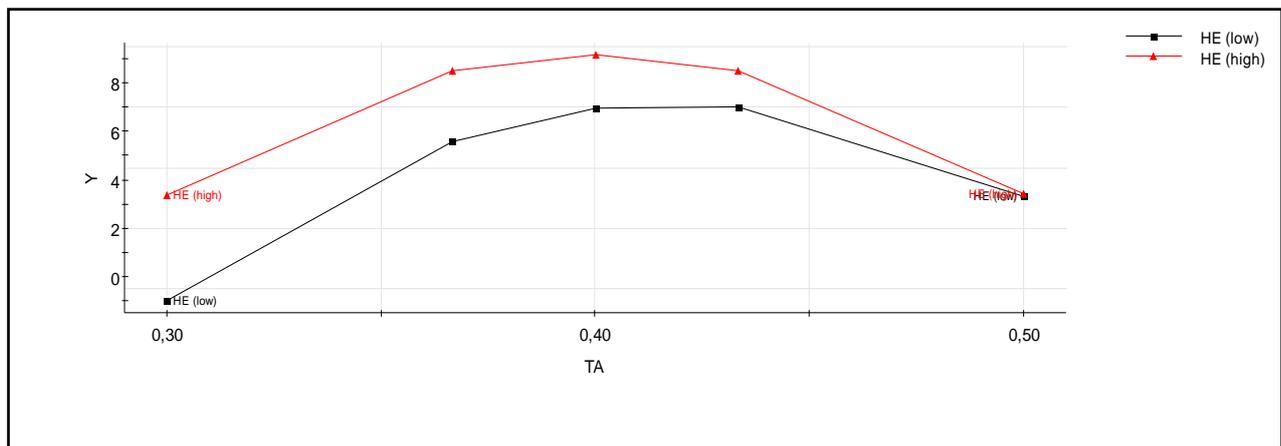


Figure 5.15 : Effet d'interaction d'HE et TA sur la réponse.

Au fait, les résultats trouvés confirment le rôle de chaque facteur dans l'émulsion. Une émulsion est la dispersion d'une phase huileuse sous forme de gouttelettes dans une phase aqueuse continue. L'ajout d'une quantité suffisante de tensioactif est indispensable pour maintenir les gouttelettes bien dispersées, comme c'est illustré sur l'image de la figure (5.16). Pour renforcer la stabilité et garder les gouttelettes bien éloignées, on augmente la viscosité de la phase continue par un polymère, qui est dans notre cas le HEC. Cependant, les ingrédients de l'émulsion pourraient présenter des interactions entre eux et le rôle de chacun pourrait s'inverser.

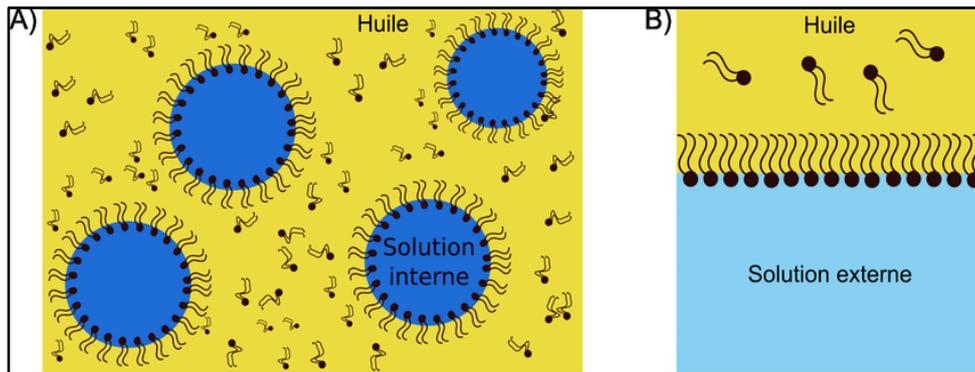


Figure 5.16 : Représentation schématique de la technique d'émulsification.

Cependant, les résultats du vieillissement accéléré ont bien montré que toutes les émulsions sont instables à long terme. La centrifugation a séparé toutes les émulsions en deux phases distinctes, même celles qui semblaient stable, il s'agit des essais 7 et 21.



Figure 5.17 : Essai 21 avant et après centrifugation.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail vise à valoriser une plante médicinale et aromatique très répandue dans le monde et en Algérie, connue sous le nom d'Absinthe. Notre étude s'est concentrée sur l'extraction de l'huile essentielle de cette plante et la formulation d'une émulsion buvable.

L'extraction de l'huile essentielle a été effectuée par hydrodistillation à l'échelle de laboratoire. En utilisant le logiciel MODDE 6.0, nous avons étudié les effets des différents facteurs sur le rendement. Les facteurs choisis pour cette étude sont le rapport solvant/masse, la masse et le temps. Il a été trouvé que le rapport s/m et le temps sont les facteurs qui ont les effets les plus importants sur le rendement. Cette approche nous a permis d'optimiser les conditions d'extraction et d'obtenir un rendement maximal de l'ordre de 1,1%.

Nous avons également abordé la formulation de l'émulsion buvable. La méthodologie des plans d'expériences a été aussi utilisée pour déterminer la meilleure combinaison des différents composants de l'émulsion, optimisant ainsi la stabilité et l'homogénéité de celle-ci.

La caractérisation rhéologique était le moyen employé afin d'étudier le comportement structural du produit formulé sous écoulement et de déduire sa stabilité. Les courbes d'écoulement obtenues ont été modélisées par le modèle de Carreau et la valeur de la viscosité à cisaillement nul a été prise comme réponse.

Cependant, il était difficile d'obtenir une formulation optimale à partir de nos résultats actuels. Il aurait été souhaitable de refaire la formulation en variant les intervalles des différents facteurs, en diminuant également le rapport phase aqueuse/phase organique, et en modifiant le tensioactif et le polymère. Ce travail est loin d'être achevé, arriver à une formulation optimale et stable n'est pas une tâche facile. Il faudra revoir et varier les facteurs étudiés pour améliorer encore cette formulation.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] OUIS NAOUEL. ; « Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil », Thèse de doctorat, université d'Oran 1, 2015, p223.
- [2] BOUNIHI AMINA. ; « Criblage phytochimiques, étude toxicologique et valorisation pharmacologique de *Melissa officinalis* et de *Mentha rotundifolia* (Lamiacées) », Thèse de doctorat national, université Mohammed v, 2016, p19.
- [3] LESLEV BREMNESS. ; « Plantes aromatiques et médicinales, 700 espèces ».Ed. Tec & Doc, Paris, 2005.
- [4] QUEZEL, R ; SANTA S. ; « Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. » Tome 2. Ed, Centre National de la Recherche Scientifiques. Paris, 1963, p977.
- [5] KORDALI,S ; CAKIR A. ; MAVI A. ; KILIC H AND YILDRIM A. ; « Screening of chemical composition and antifungal and antioxidant activities of the essential form three Turkish *Artemisia* species » J. Agric. Food Chem. 53. 2005, p.1408 – 1416.
- [6] DOB T, BENABDELKADER, T., « Chemical composition of the essential oil of *Artemisia herba-alba* Asso grown in Algeria », J. Essen. Oil. Res, 2006, n° 18, 685.
- [7] JUTEAU F., JERKOVIC I., MASOTTI V., MILOS M., MASTERLIC J., BESSIERE J., J VIANO. « Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Artemisia absinthium* from Croatia and France». *Planta Medica*, 2003.
- [8] RENOUF, A. « L'Absinthe (*Artemisia absinthium* L.) : approche ethnobotanique. Sciences pharmaceutiques », 2019.
- [9] BENMIMOUNE, S. « Extraction, caractérisation et effet antimicrobien de l'huile essentielle d'*Artemisia absinthium* » ,2012.
- [10] BENER, M. « Modeling and Optimizing of Microwave-Assisted Extraction of Antioxidants and Phenolic from Wormwood Using Response Surface Methodology », 2020.
- [11] MEZACHE, N. « Détermination structurale et évaluation biologique de substances naturelles de quelques espèces de la famille Asteraceae : *Senecio giganteus* Desf. Et *Chrysanthemum myconis* L. », thèse Doctorat : Phytochimie : Constantine : Université Mentouri Constantine, 2010, p. 4-5.
- [12] BAILEN MARIA, LUIZ JULIO, CARMEN E-DIAZ, SANZ, RAFAEL A, RAIMUNDO CABRERA, JESUS BURILLO, AZUCENA GONZALEZ COLOMA. « Chemical composition and biological effects of essential oils from *Artemisia absinthium* L cultivated under different environmental conditions ». *Industrial Gops and Product* 49, 2013, p.102-107.
- [13] GILLY, G ; « Les plantes aromatiques et huiles essentielles à grasse ». Ed. L'harmattan. Paris, 2005, p.193-197.
- [14] GHEMOUR, G ; « Les plantes médicinales dans la région des Ouadhia et Boghni ». Thèse d'ingénieur, U.M.M.T.O, Institut d'agronomie, 2004/2005.
- [15] SWERDLOV J.L. ; « Médecine des plantes qui guérissent de la nature » Washington DC, National Geographic Society. 2000.
- [16] OZENDA P. ; « Flore du Sahara ». Ed, Centre National de Recherche Scientifique, 2ème édition. Paris, 1983, p 662.

- [17] MUBASHIR.H, NAVEED.I, ABIDA.A, ANAM.I, DANISH.A, FARHAT.Y, ROOMINA.M, MUHAMMED.I. « A status review on the pharmacological implications of *Artemisia absinthium* Acritically endangered plant. Asian Pacific journal of Tropical Disease ». Asian Pac J., 2017, P.185-192.
- [18] TARIQ, K., CHISHTI, M., AHMAD, F., SHAWL, A. « Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* L. against ovine nematodes ». Veterinary Parasitology, 2009, p160.
- [19] MANSOUR, S. « Evaluation de l'effet anti inflammatoire de trois plantes médicinales : *Artemisia absinthium* L, *Artemisia herba alba* Asso. Et *Hypericum scarboides* ». Thèse de Doctorat en biologie, Université des Sciences et de la Technologie d'Oran Mohamed Boudiaf, p.23-27,2015.
- [20] BORDEZ L. « Grandes Absinthe *Artemisia absinthium* » Faculté libre des sciences et technologies, Université Catholique de Lille, 1753.
- [21] BELAIDI NADA ET BOUBENDIRA KENZA. « Evaluation de l'activité antioxydant de l'espèce *Artemisia absinthium* ». Mémoire de master, Université des frères mentouri Constantine, 2018, p. 4-7.
- [22] LAMART A., SADKI I., BADO A., DEFFIEUX G. ET CARDE JP. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 1996, p.25-43.
- [23] SKIREDJ A. ; ELATTIR H. ; ELFADI A. « Bulletin mensuel d'information et de liaison du Programme National de Technologie en Agriculture » (PANTA) DERD, Rabat, 2002.
- [24] WICHTL M. ; ANTON R. ; « Plantes thérapeutique-tradition, pratique officinale, sciences et thérapeutique ». 2éme Edition, Ed. Tech & Doc, Paris, 2003.
- [25] HEINRICH M.; BARNES J.; GIBBONS S. « Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy » Churchill Livingstone, Edinburg, p. 209 – 210, 2004.
- [26] BLAGOJEVIĆ P, RADULOVIĆ N, PALIĆ R, STOJANOVIĆ G. « Chemical composition of the essential oils of Serbian wild-growing *Artemisia absinthium* and *Artemisia vulgaris* ». Agric Food Chem, 2006.
- [27] GUY F. « Demande d'appellation d'origine réglementée: absinthe de Pontarlier». Association de défense de l'Absinthe de Pontarlier-Distillerie Guy-Pontarlier, 2003.
- [28] OLSEN R. « Absinthe and gamma-aminobutyric acid receptors ». Proc Natl Acad Sci U S A, 2000.
- [29] VAN HELLEMONT J. "Compendium de phytothérapie" Bruxelles, 1986, p.49-50.
- [30] MOUAKITE N. « Étude de 3 plantes à huile essentielle contenant de la thuyone : absinthe, sauge, thuya ». Thèse d'exercice, Université de Caen. UFR des sciences pharmaceutiques, France, 1986.
- [31] GONZALEZ-COLOMA A, BAILEN M, DIAZ C, FRAGA B, MARTINEZ-DIAZ R, ZUÑIGA G, et al. « Major components of Spanish cultivated *Artemisia absinthium* populations: Antifeedant, antiparasitic, and antioxidant effects », 2012.
- [32] TARIQ K, CHISHTI M, AHMAD F, SHAWL A. « Anthelmintic activity of extracts of *Artemisia absinthium* against ovine nematodes ». Vet Parasitol, Mars 2009, vol.160, n° (1-2):83-8.

- [33] CANER A, DÖŞKAYA M, DEĞİRMENCI A, CAN H, BAYKAN S, ÜNER A, et al. «Comparison of the effects of *Artemisia vulgaris* and *Artemisia absinthium* growing in western Anatolia against trichinellosis (*Trichinella spiralis*) in rats». *Exp Parasitol.* 2008, vol.119, n° (1):173-9.
- [34] TARIKU Y, HYMETE A, HAILU A, ROHLOFF J. « In vitro evaluation of anti-leishmanial activity and toxicity of essential oils of *Artemisia absinthium* and *Echinops kebericho* ». *Chem Biodivers.* 2011 , vol 8, n° (4): 614-23.
- [35] WEIMIN LIU, YINGYING LI, LEARN GH *ET AL.*, « Origin of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum* in gorillas », *Nature*, vol. 467, 2010, p. 420–425
- [36] HERNANDEZ H. 1 MENDIOLA J., TORRES D. 1 GARRIDO N. « Effect of Aqueous Extracts of *Artemisia* on the In Vitro Culture of *Plasmodium falciparum* » *Fitoterapia*, 1990, vol.61, n° (6), p.540-1.
- [37] RAMAZANI A, SARDARI S, ZAKERI S, VAZIRI B. In vitro antiplasmodial and phytochemical study of five *Artemisia* species from Iran and in vivo activity of two species. *Parasitol Res.* août 2010 ; 107(3) :593-9.
- [38] CAVALLI J. F. (2002) Caractérisation par CPG/IK, CPG/SM et RMN du carbone-13 d'huiles essentielles, Madagascar : Université de Corse Pascal Paoli.
- [39] AFNOR. « Recueil de normes : les huiles essentielles. Tome 2. Monographies relatives aux huiles essentielles ». AFNOR, Paris ; 2000 :661-3
- [40] RAUL L. H. O. « Substitution de solvants et matières actives de synthèse par un combine solvant/actif » D'origine végétale. Toulouse : Thèse De L'institut National Polytechnique De Toulouse., 2005.
- [41] SAMIR H., « Mise en évidence des huiles essentielles contenues dans les plantes *Pituranthos scoparius* et *Rhantherium adpressum* de la région de Ghardaïa, Ouargla » mémoire de magister ,2009.
- [42] GUBA, R. « Toxicity myths-essential oils and their carcinogenic potential ». *International Journal of Aromatherapy.* 2001, p.76-83.
- [43] AMIOUR, A. « Mémoire de Master : Les plantes aromatiques et les antioxydants ». Université des Frères Mentouri Constantine. Algérie, 2017.
- [44] DURAFFOURD C., D'HERVICOURT L. ET LAPRAZ J. C. « Cahiers de phytothérapie clinique. 1 ». Examens de laboratoires galéniques. Eléments thérapeutiques synergiques. 2ème éd. Masson, Paris.1990.
- [45] VALNET J. « Aromathérapie, Traitement des maladies par les essences des plantes ». Maloine S.A. éditeur. Paris, ce point varie de 160°C à 240°C. 1984, p544.
- [46] BESOMBES, C. « Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydrothermomécanique d'herbes aromatiques, Applications généralisées ».Thèse de Doctorat : Université de La Rochelle. France, 2008.
- [47] BOURAS, M. « Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques ». Thèse de Doctorat : Université Badji mokhtar-annaba.Algérie, 2018.
- [48] ZENASNI LEILA. « Etude du polymorphisme chimique des huiles essentielles de *Thymus satureioides* Coss et d'*Origanum compactum* Benth gu genre *Nepta* et évaluation de leur propriété antibactérienne ». Thèse de doctorat : Université Mohammed-Agdal, Rebat. Maroc, 2014.

- [49] BOUKLI HACENE S. M. A. « Contribution à l'étude de la résistance caractéristique des bétons de la région de TLEMCEM ». Thèse de Doctorat à l'Université de Tlemcen, Janvier, 2010, p193.
- [50] SADO G. et SADO M.C. « Les plans d'expériences, de l'expérimentation à l'assurance qualité », Afnor Technique Ed., Paris, 1991.
- [51] PILLET M. « Introduction aux plans d'expériences par la méthode Taguchi, les éditions d'organisation Ed ». Paris, 1992.
- [52] BARON J., OLLIVIER J.P. « Les bétons bases et données pour leur formulation, Edition Eyrolles ». Paris, 1996, p522.
- [53] AYAD M., BARKA Y. « modélisation des bétons ordinaires par les plans d'expériences ».2013, p.130.
- [54] GHAFARI, S., AZIZ, H.A., ISA, M. H. ZINATIZADEH, A. « Application of Response Surface Methodology (RSM) to Optimize Coagulation-Flocculation Treatment of Leachate Using Poly-Aluminum Chloride (PAC) and Alum ».J. Hazard. Mater, 2009, vol.163, p. 650–656.
- [55] ABU AMR, S.S., AZIZ, H.A., BASHIR, M.J.K. « Application of response surface methodology (RSM) for optimization of semi-aerobic landfill leachate treatment using ozone ». Appl. Water Sci., 2014, p.231-239.
- [56] SMAOUI, Y., CHAABOUNI, M., SAYADI, S., BOUZID, J. « Coagulation Flocculation Process for Leachate Pretreatment and Optimization with Response Surface Methodology ». Desalin. Water Treat, 2016, vol.57, n° (31):14488-14495.
- [57] GOUPY, J., CREIGHTON, L. « Introduction aux Plans D'expériences, 3rd Ed ». Dunod, Paris, 2006, p336.
- [58] FERREIRA, S.L.C., BRUNS, R.E., FERREIRA, H.S., MATOS, G.D., DAVID, J.M., BRANDAO, G.C., SILVA, E.G.P., PORTUGAL; L.A., REIS, P.S., SOUZA, A.S., DOS SANTOS, W.N.L. « Box–Behnken design: an alternative for the optimization of analytical methods ». Anal Chim Acta, 2007. Vol.597:179–186.
- [59] BEZERRA, M.A., SANTELLI, R.E., OLIVEIRAA, E.P., VILLAR, L.S., ESCALEIRA, L.A. « Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry ». Talanta ,2008. Vol.76, n° (5) : 965-977.
- [60] Karam, Sandrine. « Application de la méthodologie des plans d'expériences et de l'analyse de données à l'optimisation des processus de dépôt ». Thèse de doctorat: électronique: Université de Limoges, 2004, p234.
- [61] TAMBE, D.E. AND M.M. SHARMA. « Factors controlling the stability of colloid-stabilized emulsions: II. A model for the rheological properties of colloid-laden interfaces ». Journal of colloid and interface science, 1994. Vol.162, n° (1), p. 1-10.
- [62] OANA CRACIUNESCU.; DANIEL CONSTANTIN.; ALEXANDRA GASPARI.; LIANA TOMA. ; ELENA UTOIU AND LUCIA MOLDOVAN.; « Polyphenol composition and antioxidant activity of extract from Artemisia absinthium L » Chemistry Central Journal 2012.
- [63] CHALGOU M et ZERARI I. « Etude de la toxicité de l'huile essentielle de la plante Artemisia absinthium à l'égard de deux espèce de moustique Culex pipiens et Culiseta longiareolata ». Mémoire de master : biologie moléculaire : Université Larbi Tébessi – Tébessa, 2021, p59.

- [64] ABID W et AOUNALLAH L. « Rendement d'huile essentielle d'une plante médicinale *Artemisia absinthium* et l'étude théorique de leur toxicité sur quelques espèces de moustiques » .Biochimie appliquée : Université Larbi Tébessi – Tébessa, 2020, p49.
- [65] CHAOUI M ET CHEGROUNE S. « Contribution à la caractérisation chimique des extraits de quelques plantes aromatiques et médicinales de la steppe du sud-algérois ». Agroalimentaire et Contrôle de Qualité : Université Ziane Achour -Djelfa. 2019, p117.
- [66] BOUCHENAK, F., DEGAICHIA, H., LAMGHARBI, A., & FATIMA, B. « Évaluation in vitro du Potentiel Antifongique de l'huile essentielle et des extraits méthanoliques d'une Asteraceae *Artemisia Absinthium* L. in vitro Evaluation of Antifungal potentiel of essential Oil and methanolic extracts of Asteraceae *Artemisia Absinthe* ». BOUCHENAK et Al. Revue Agrobiologie, 2018, vol.8, n° (1), p.886–895.