

EXTRACTION ASSISTEE PAR MICRO ONDE DE LA VANILLINE DANS LES GOUSSES *DE VANILLE PLANIFOLIA* DE MADAGASCAR : OPTIMISATION ET MODELISATION

A. J. E RAZAFIMAHATRATRA¹, B. ROBIJAONA RAHELIVOLOLONIAINA^{1,2}, A. M. T.
RAKOTOJAONA¹, N. RANJATOSON¹, S.R. RABEARISOA²

¹Laboratoire de Chimie et de Microbiologie du Ministère de l'Industrialisation, du Commerce et de la
Consommation

²Laboratoire du Génie Chimique de l'Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo

Correspondant : tratra.anjajean3@gmail.com

RESUME

Dans la présente étude, la méthodologie de surface de réponse (MRS) a été utilisée pour optimiser les conditions d'extraction des composés aromatiques des gousses de vanille planifolia de Madagascar. L'effet des trois variables indépendantes : la concentration en éthanol, la puissance de micro-ondes et le rapport solvant / matière qui affectent sur la teneur en vanilline, ont été évalués. Les expériences ont été conçues selon la conception rotative composite centrale. Les conditions optimales d'extraction assistée par micro-ondes permettant d'obtenir un meilleur rendement en vanilline dans les gousses sont : 72 % pour concentration en éthanol, 480 W pour la puissance, 30 ml/g pour le rapport Solvant/Matière, avec un temps d'irradiation de 60 min. L'extraction assistée par micro-ondes est plus efficace que la méthode conventionnelle « le Soxhlet » pour la récupération de la vanilline dans les gousses. Dans l'extraction par Soxhlet, les conditions optimales étaient un temps d'extraction de 16 h pour l'éthanol à 90 % comme solvant. Les valeurs expérimentales sont proches des valeurs prédites par le modèle mathématique obtenu. Les extraits de vanille sont analysés par spectrophotométrie UV Visible et par HPLC.

Mots clés : Extraction assistée par micro-ondes, gousse de vanille, Méthodologie de surface de réponse, ANOVA, extraction par Soxhlet.

INTRODUCTION

La culture de la vanille méconnue du monde extérieur, la qualité naturelle du parfum et de la saveur de la vanille malgache offrent à Madagascar une grande opportunité. Depuis de longues années, Madagascar est le premier exportateur mondial de cette plante aromatique. La grande île assure plus de 70 % de l'offre mondiale. Les Etats-Unis importent plus de 60% de vanille export de Madagascar, suivi de la France avec 20% actuellement [1]. Pourtant, la vanille malgache est frappée par le marasme du marché international. En fait, l'offre n'a jamais rejoint la demande et le prix surprend toujours chaque année. En plus, les aléas climatiques ne rassurent pas vraiment les opérateurs de la filière. En outre, la consommation mondiale de la vanille naturelle continue à diminuer et le produit substitut gagne le terrain [2].

De plus, les exigences techniques imposent les clients à effectuer des analyses de contrôle qualité de leur produit aux laboratoires, qui utilisent des méthodes normalisées pour la réalisation des essais. La durée de cet essai est de Minimum 48 heures, l'opération d'extraction de l'arôme de vanille occupe plus de temps dans la procédure de contrôle au laboratoire [3].

Ces dernières années, l'utilisation du chauffage classique dans les laboratoires de chimie analytique et de contrôle qualité, commence à être concurrencée par celle du chauffage par microonde [4]. La chimie préparative, telle que l'extraction solide-liquide à laquelle nous nous intéressons dans le cadre de l'extraction de molécules aromatiques issues de la gousse de vanille, doit réduire elle aussi ses durées, tout en conservant son efficacité et sa sélectivité [5], [6], [7]. Les micro-ondes apportent une solution de choix. Grâce à un chauffage sélectif, sans inertie, et rapide. De plus le procédé d'extraction assisté par Microonde (MAE) consiste à irradier par micro-ondes la matière végétale broyée au préalable ou non, en présence d'un solvant qui absorbe fortement les microondes tel que l'eau, le méthanol et l'éthanol pour l'extraction de composés polaires, ou bien en présence d'un solvant qui n'absorbe pas les micro-ondes comme l'hexane pour l'extraction de composés apolaires. Cette technique se présente beaucoup plus efficace qu'une méthode conventionnelle et permet de réduire les temps d'extraction et donc les dépenses en énergie [7], [8], [9], [10].

La modélisation et l'optimisation du procédé complexe dans les conditions d'extraction où des nombres de facteurs et leurs interactions affectent sur les réponses, la méthodologie de surface de réponse ou RSM (Response Surface Methodology) devient un atout et une technique très utile [10], [11]. La RSM permet à l'utilisateur d'identifier les conditions optimales pour une réponse sélectionnée tout en minimisant les nombres de réponses requises. Le RSM comprend aussi une collection de Mathématique et des procédures statistiques qui peuvent être utilisées pour étudier la relation entre un certain nombre de facteurs (variables indépendantes) et une ou plusieurs réponses (Variables dépendantes) [12], [13].

Le temps d'extraction, la puissance de la microonde, la température, la composition du solvant et ainsi que le rapport solvant/matériau sont les facteurs qui peuvent influencer l'efficacité de l'extraction [14], [15], [16].

Dans cette étude, la méthode d'extraction assistée par micro-ondes (MAE) a été établie pour extraire les arômes naturels des gousses de vanille *planifolia*. Des expériences à facteur unique ont été menées pour étudier l'effet de paramètres sur l'efficacité de l'extraction, et RSM a été ensuite utilisée pour étudier les interactions entre les principaux paramètres influents. De plus, une extraction par Soxhlet a été effectuée pour comparer les résultats de l'efficacité. Enfin, le taux de vanilline de l'extrait obtenu a été analysé par spectrophotométrie UV Vis et HPLC suivant la méthode d'analyse normalisée [17].

MATERIELS ET METHODES

I.Réactifs et solvants

Les réactifs nécessaires pour la réalisation des expériences et analyses étaient des réactifs de qualité analytique éthanol 96°, de l'eau distillée, de titrisol d'hydroxyde de sodium 1N de marque Merck et de la vanilline pure 99,9% ont été utilisées.

II.Matériels végétaux

Les gousses de vanille ont été recueillies dans la région SAVA (Sambava et Antalaha) durant la campagne de vanille 2020 – 2022. En collaboration avec nos collègues qui travaillent au poste de conditionnement au sein de la direction régionale du Ministère de l'Industrialisation, du Commerce et de la Consommation. Les gousses de vanille mures ont été emballées dans des papiers sulfurés, séchées à l'air et à température ambiante, puis broyées en fines particules (taille de particules de 0,5 mm), et ont été conservés à 20°C au dessiccateur jusqu'à utilisation ultérieure.

III.Modification de la Microonde

Les extractions assistées par micro-ondes ont été réalisées dans un four microonde domestique. Les modifications du four sont décrites dans la figure 1, dont les caractéristiques sont les suivantes :

- ✓ 6 niveaux de puissance réglable (Haut : puissance 100%, Moyennement Haut : puissance 85%, Moyen : Puissance 66%, Moyennement bas : puissance 40%, Dégivrage : puissance 37%, Bas : Puissance 17%.
- ✓ Puissance maximale dégagée 700 W,
- ✓ Source d'onde par magnétron,
- ✓ La fréquence de fonctionnement : 2450 MHZ,
- ✓ Voltage : 220 – 240 V - 50 Hz,
- ✓ La dimension de la microonde à cavité est de 206 mm (H) x 300 mm (W) x 302 mm (D).
- ✓ Extraction à pression atmosphérique.

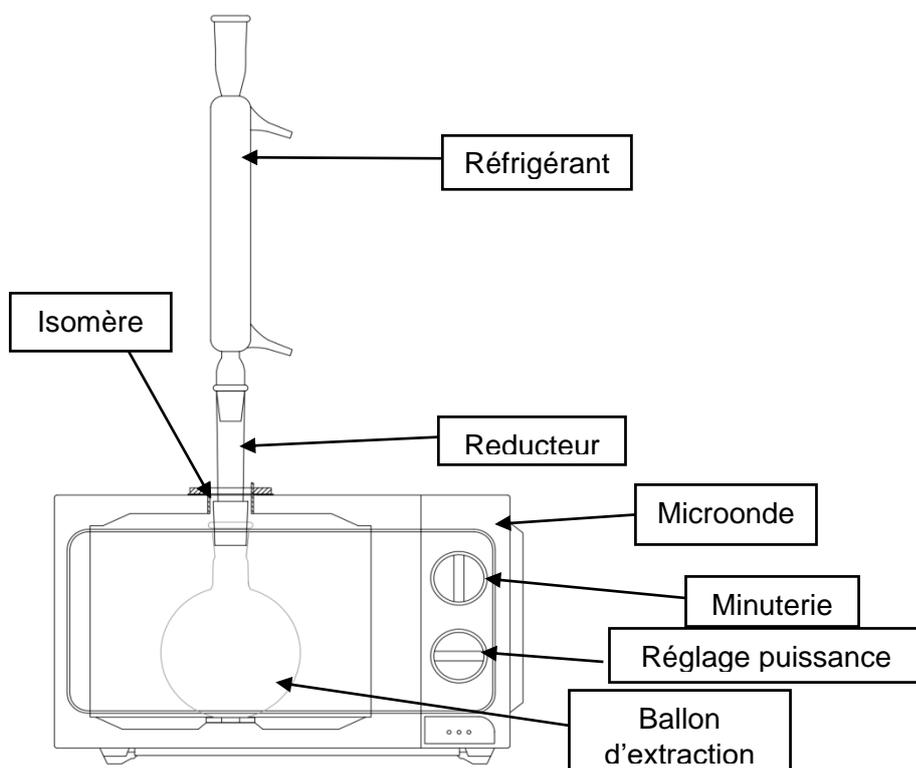


Figure 1 : Montage extracteur Microonde modifié.

Le dispositif d'extraction par micro-ondes est équipé d'un moniteur pour contrôler les paramètres de fonctionnement, tels que le temps de fonctionnement et la puissance des micro-ondes.

IV.Spectrophotométrie UV visible

L'appareil spectrophotomètre UV visible de marque Beckmann est utilisé pour le dosage du taux de vanilline, dont les caractéristiques de l'appareil sont les suivants : source de rayonnement : lampe à hydrogène de longueur d'onde 300 nm à 900 nm ; Monochromateur : prisme ; porteur de l'échantillon : cuve en quartz ; détecteur : photodiode et un système de traitement de signal digital LED.

V.Chromatographie Liquide à Haute Performance (HPLC)

Le matériel d'analyse est un HPLC équipé de : un détecteur UV/VIS Perkin Elmer ; une pompe LC Series 200, un injecteur de 20 μ l, une colonne μ Bondapak-C18 125Å, granulométrie 10 μ m, 4.6x150 mm, et un logiciel AZUR 6.1 pour l'acquisition des données.

VI.Extraction de la vanilline dans les gousses

1. Extraction assistée par microonde

Les gousses de vanille broyées de masse m ont été placées dans un ballon d'extraction en pyrex de 150 ml et mélangée avec le solvant d'extraction dont le volume a été décidé en fonction du plan d'expérience. Ensuite, le ballon contenant le mélange est placé dans l'extracteur à micro-ondes puis irradié dans les conditions prédéfinies, y compris la température, le temps et la puissance des micro-ondes. Après l'extraction, laisser refroidir le mélange avant de le filtrer avec des papiers filtre wattman. On a recueilli l'extrait obtenu pour le dosage de la vanilline par Spectrophotométrie UV Vis.

2. Dosage de la vanilline par spectroscopie UV VIS et HPLC

La teneur en vanilline dépend essentiellement des conditions de culture, de récolte et de préparation des gousses, ainsi que la technique d'extraction utilisée. La teneur en vanilline sur base humide est déterminée par l'une ou l'autre par des méthodes décrites de l'ISO 5565 -2 : 1999 rev 2016 (F), méthode par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) et méthode par spectrométrie UV VIS.

3. Conception expérimentale

3.1. Plan d'expérience à facteur unique

Le plan d'expérience à facteur unique a été établi pour évaluer les effets de quatre (04) facteurs qui affectent sur la teneur en vanilline dans les gousses, y compris la concentration d'éthanol qui varie de 0% (eau) à 90%, le rapport solvant/matière varie de 10 à 50 mL/g, temps d'extraction de 5 à 90 min, et la puissance des micro-ondes de 150 à 700 W. Puis après les expériences à facteur unique, trois facteurs d'influence majeurs obtenus seront sélectionnés pour la conception de la méthode de surface de réponse suivante.

3.2. Analyse de variance (ANOVA) et conception rotative composite centrale

La méthode de surface de réponse (RSM) a été menée pour déterminer les variables du processus d'extraction assistée par microonde optimisée pour la détermination du taux de vanilline à l'aide de la conception rotative composite centrale ou CCRD (XLSTAT 2014 version professionnel et minitab 11). Trois répétitions ont été utilisées pour l'évaluation de l'erreur pure. Le logiciel de conception du plan d'expérience (DOE, XLSTAT) a été utilisé pour l'analyse de régression de données expérimentales afin d'ajuster une équation polynomiale de second ordre (modèle quadratique). Selon l'équation générale suivante :

$$y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{j=2}^k \sum_{i=1}^{j-1} \beta_{ij} X_i X_j + \sum_{i=1}^k \beta_{ii} X_i^2 + E \quad \text{Equation (1)}$$

Où y est la fonction de réponse (Taux de vanilline dans notre cas), β_0 est le coefficient constant, β_i ; β_{ii} et β_{ji} sont respectivement les coefficients des termes linéaires, quadratique et interactif, X_i et X_j sont les variables indépendantes. Les coefficients de régression des termes linéaires, quadratiques et d'interaction ont été déterminés selon l'analyse de variance (ANOVA).

Afin de visualiser les relations entre les réponses niveaux expérimentaux de chaque facteur et d'en déduire les conditions optimales, les coefficients de régression ont été utilisés pour générer les traçages de surfaces 3D et les tracés de contour à partir de l'équation polynomiale ajustée.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

I. Expérience à facteur unique

I.1.Effet de la concentration d'éthanol

Dans cette étude, une solution aqueuse d'éthanol a été choisie comme solvant d'extraction en raison de sa faible toxicité et la facilité d'accès à l'eau et à l'éthanol. Le système de solvant (Eau-éthanol) est largement utilisé dans l'extraction des gousses de vanille. L'effet de la variation de la concentration en volume d'éthanol de 0 à 90 % sur l'efficacité de l'extraction a été étudié dans les conditions suivantes : rapport solvant/matière de 20 mL/g, temps d'extraction de 45 min, température d'extraction de 30°C et une puissance de 400 W.

La figure 2 montre que lorsque la concentration d'éthanol a augmenté de 0 % à 70 %, le taux de vanilline en pourcentage massique est passé de 1,07 % à 2,37 % en gramme de vanilline. Cependant, lorsque la concentration d'éthanol continue à augmenter de 70% à 90%, une tendance à la baisse a été observée dans la valeur de la teneur en vanilline. Par conséquent, une concentration d'éthanol de 70 % a été choisie dans les expériences ultérieures.

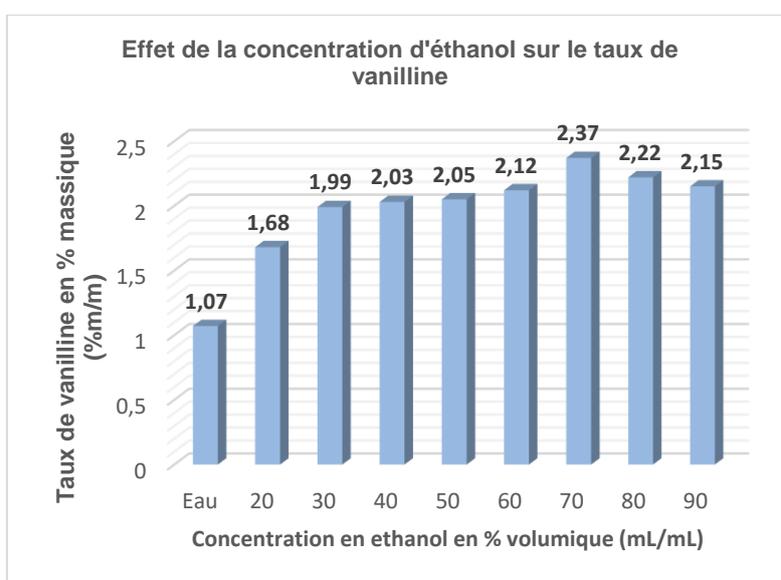


Figure 2 : Effet de la concentration d'éthanol (Solvant d'extraction)

I.2. Effet du rapport solvant/matière (S/M)

Le rapport solvant/matière (rapport S/M) pourrait affecter l'efficacité de l'extraction car dans certaines limites un rapport plus élevé pourrait entraîner une différence de concentration

plus importante c'est-à-dire la saturation du solvant, ce qui est bénéfique pour le transfert de matière et la dissolution des solutés. L'effet du rapport S/M sur l'efficacité de l'extraction a été étudié entre 10 et 50 mL/g, tandis que les autres facteurs ont été contrôlés comme suit : concentration d'éthanol de 70 %, temps d'extraction de 45 min, température d'extraction de 30 ° C et la puissance de la micro-onde à 400W.

Comme le montre la figure 3, le pourcentage en vanilline a augmenté de manière significative à mesure que le rapport S / M augmentait de 10 à 30 mL/g, puis décroît progressivement au fur et à mesure que le rapport S/M passe de 30 à 50 mL/g. Cela signifie que lorsque le rapport S/M atteint 30 ml/g, le processus de transfert de matière atteint son niveau maximum. Ainsi, un rapport S/M de 30 mL/g a été sélectionné dans les expériences ultérieures.

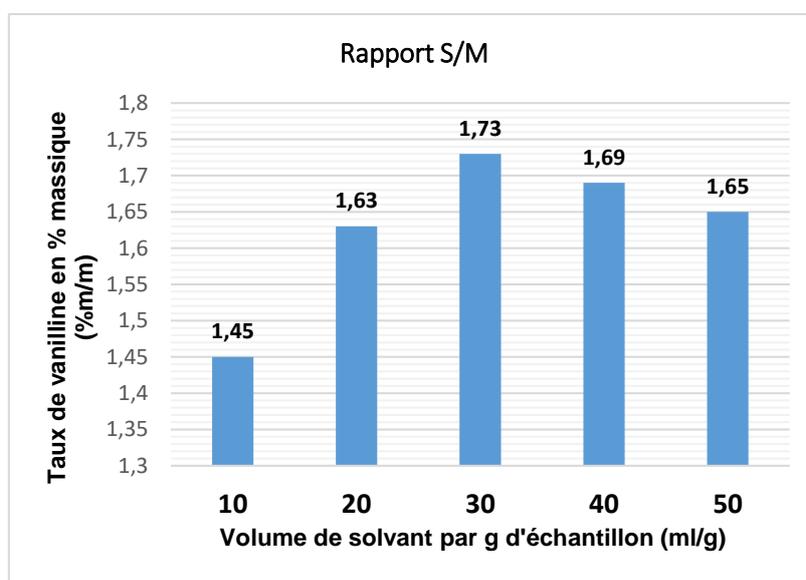


Figure 3 : Effet du rapport solvant/matière

1.3 Effet du temps d'extraction et cinétique

L'effet de la variation de temps d'extraction de 0 à 90 min a été étudié sur l'efficacité de l'extraction par solvant assistée par Microonde. Les conditions opératoires suivantes sont adoptées pour cette expérience : concentration en éthanol 70 %, rapport S/M de 30 mL/g, température d'extraction de 30 °C et la puissance de la micro-onde 400 W.

Comme le montre la figure 4, le taux de vanilline a augmenté de 0 à 1,42 % de vanilline pour 100 grammes de gousse, respectivement pour les temps de 0 à 60 min. Lorsque le temps d'extraction a continué d'augmenter, la valeur de la teneur en vanilline reste inchangée jusqu'à 75 min puis si on continue à augmenter le temps, la valeur de ce taux diminue de 1,32%. Cela signifie que lorsqu'on expose aux micro-ondes la vanille avec un temps assez long, cela peut entraîner une dégradation du produit. Des résultats similaires ont été rapportés dans des études sur l'extraction d'anthocyanes à partir desweet Tea (*Lithocarpus polystachyus* Rehd) [11] et des grains de tomate [22]. Ainsi, le temps d'extraction de 60 min a été choisi dans les expériences ultérieures.

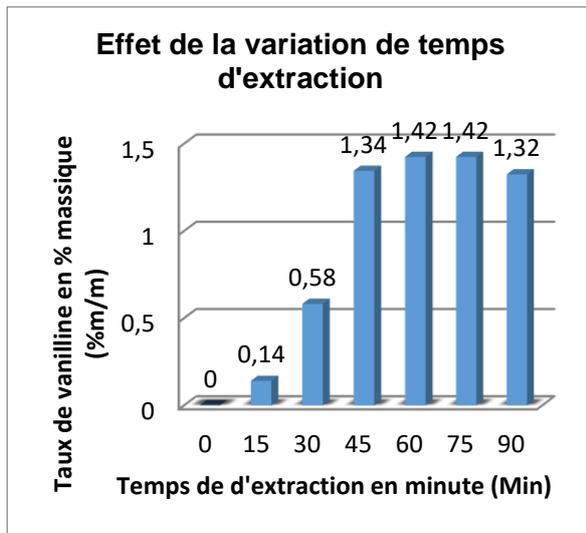


Figure 4a : Effet de temps d'extraction

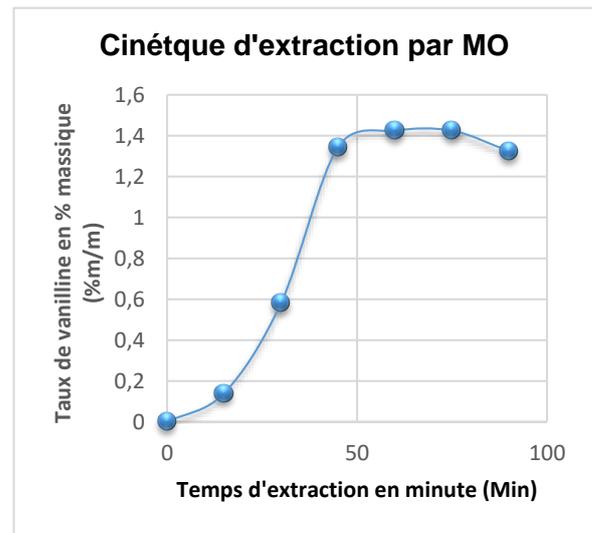


Figure 4b : Cinétique d'extraction

I.4. Effet de la puissance de la micro-onde

La puissance des micro-ondes pourrait également influencer le rendement en vanilline dans les gousses pendant le processus MAE. La Figure 5 montre l'impact des différents réglages de puissance de 100 à 700 W) sur efficacité de l'extraction.

Les conditions opératoires suivantes sont adoptées : la concentration de l'éthanol 70%, le rapport S/M de 30 mL/g, temps d'extraction de 60 min et température d'extraction de 30°C. Selon les résultats, le pourcentage en vanilline pour 100 grammes de gousse a augmenté avec la puissance de la micro-onde passant de 100 à 400 W, et a atteint le pic 1,432% à un niveau de puissance de 400 W. Lorsqu'on continue à augmenter progressivement la puissance de la micro-onde, par conséquent, le taux de vanilline a tendance à diminuer. Cela signifie que pendant le processus MAE, la puissance des micro-ondes a une influence très importante sur l'efficacité de l'extraction. Une augmentation de la puissance pourrait accélérer le mouvement du solvant, la rupture cellulaire et la diffusion des extraits ou des molécules aromatiques dans le solvant. Ainsi, une puissance micro-onde de 400 W a été choisie comme puissance micro-onde optimale dans les expériences.

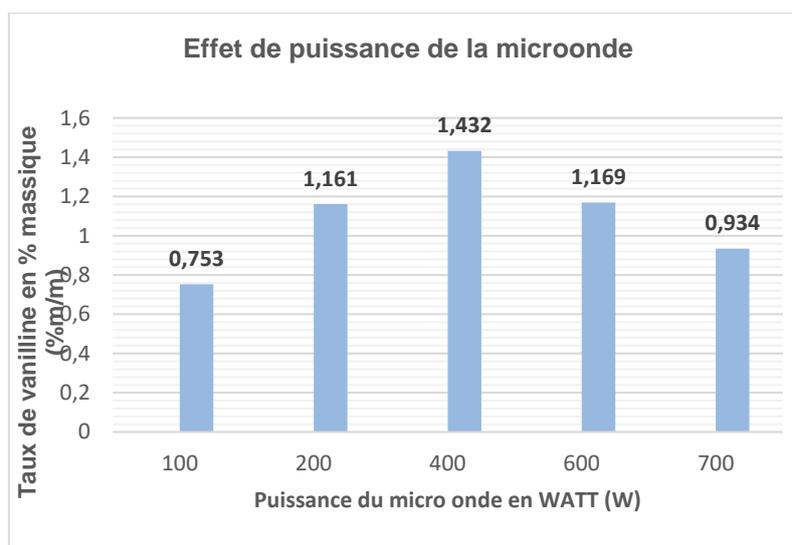


Figure 5 : Effet de puissance de la microonde sur le taux de vanilline

Le tableau 1 résume le plan d'effet à un seul facteur de la méthode d'extraction par solvant assistée par microonde.

Tableau 1 : Effet de facteur unique sur l'extraction de vanilline des gousses de vanille par la méthode d'extraction par micro-onde (MAE)

| Plan expérience à facteur unique | | | | | | | |
|----------------------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|------------------|--------------------------|--------------------------------|--------------------------|
| Temps d'extraction (Min) | Taux de vanilline (%m/m) | Solvant Ethanol/eau (%v/v) | Taux de vanilline (%m/m) | Puissance MO (W) | Taux de vanilline (%m/m) | Rapport Solvant/Matière (mL/g) | Taux de vanilline (%m/m) |
| (Min) | (%m/m) | (%v/v) | (%m/m) | (W) | (%m/m) | (mL/g) | (%m/m) |
| 0 | 0 | 0 | 1,07 | 100 | 0,75 | 10 | 1,45 |
| 15 | 0,14 | 20 | 1,68 | 200 | 1,161 | 20 | 1,63 |
| 30 | 0,58 | 30 | 1,99 | 400 | 1,43 | 30 | 1,73 |
| 45 | 1,34 | 40 | 2,03 | 600 | 1,17 | 40 | 1,69 |
| 60 | 1,42 | 50 | 2,05 | 700 | 0,934 | 50 | 1,65 |
| 75 | 1,42 | 60 | 2,12 | | | | |
| 90 | 1,32 | 70 | 2,37 | | | | |
| | | 80 | 2,22 | | | | |
| | | 90 | 2,15 | | | | |

I.5. La méthode de surface de réponse RSM

1.5.1 Résultats de la Conception de Rotative Composite Centrale.

Sur la base des résultats des expériences à un seul facteur, trois facteurs (la concentration d'éthanol, le rapport S/Met la puissance de la Microonde), ont exercé une plus grande influence sur l'efficacité de l'extraction. Ainsi, ils ont été choisis dans la conception de la RSM, pour une optimisation plus poussée.

Le niveau intermédiaire a été fixé sous forme d'éthanol à 70 %, rapport S/M de 30 ml/g et la puissance d'extraction de 400 W. La température et le temps d'extraction du procédé MAE sont respectivement à 30°C et 60 minutes.

Le plan d'expérience de 19 essais et les valeurs de réponse correspondantes ainsi que les valeurs prédites sont présentés dans le tableau 2 ci-dessous. Les résultats montrent que les taux de vanilline dans les gousses de vanille varient de 0,3 à 1,55 % de vanilline /100 g de gousse.

Tableau 2 : Le Plan de Composite centré, la valeur expérimentale et la valeur prédite de la Méthode de Surface de réponse MRS.

| Plan de composite centré | | | | | |
|--------------------------|-------------------------------------|-----------------------|------------------------|------------------------------------|---------------|
| | | | | Taux de vanilline en % massique | |
| Run | Concentration éthanol (% V/V) | Rapport S/M (mL/g) | Puissance MO (W) | Valeur actuel | Valeur Prédit |
| 1 | 50 | 20 | 200 | 0,7850 | 0,8168 |
| 2 | 90 | 20 | 200 | 0,9960 | 1,0065 |
| 3 | 50 | 40 | 200 | 1,1470 | 1,0832 |
| 4 | 90 | 40 | 200 | 1,2410 | 1,1643 |
| 5 | 50 | 20 | 600 | 0,8780 | 1,0019 |
| 6 | 90 | 20 | 600 | 1,0590 | 1,1701 |
| 7 | 50 | 40 | 600 | 1,1110 | 1,1478 |
| 8 | 90 | 40 | 600 | 1,1920 | 1,2074 |
| 9 | 36,36414 | 30 | 400 | 1,0420 | 0,9883 |
| 10 | 103,6359 | 30 | 400 | 1,2110 | 1,1979 |
| 11 | 70 | 13,18207 | 400 | 1,1860 | 1,0439 |
| 12 | 70 | 46,81793 | 400 | 1,2240 | 1,2993 |
| 13 | 70 | 30 | 63,64143 | 0,8630 | 0,9442 |
| 14 | 70 | 30 | 736,3586 | 1,2840 | 1,1360 |
| 15 | 70 | 30 | 400 | 1,5500 | 1,5443 |
| 16 | 70 | 30 | 400 | 1,5240 | 1,5443 |
| 17 | 70 | 30 | 400 | 1,5450 | 1,5443 |
| 18 | 70 | 30 | 400 | 1,5530 | 1,5443 |
| 19 | 70 | 30 | 400 | 1,5380 | 1,5443 |

1.5.3. Modélisation et Ajustement du modèle à l'aide de RSM

Dans cette étude, un ajustement de régression multiple a été utilisé pour analyser les données du tableau 2, et un ajustement de l'équation du modèle quadratique (polynomiale) (équation (1)) a été généré [19], [20], [21], décrivant la relation entre les 3 variables (X_1 , X_2 et X_3) étudiées et le taux de vanilline (Y) :

$$Y = 1,5443 + 0,0623 X_1 + 0,0759 X_2 + 0,05704 X_3 - 0,1595 X_1^2 - 0,1318 X_2^2 - 0,1783 X_3^2 - 0,02713 X_1 X_2 - 0,0054 X_1 X_3 - 0,0301 X_2 X_3$$

EQUATION DU MODEL (1)

1.5.4. Optimisation des conditions d'extraction par MAE

Les coefficients de régression des termes d'interception, linéaire, quadratique et d'interaction du modèle d'optimisation de l'extraction par MAE des gousses de vanille ont été calculés à l'aide de la technique des moindres carrés [15], [16], et sont présentés dans le tableau 4.

Les deux paramètres linéaires, la concentration d'éthanol (X_1) et le rapport S/M (X_2) se sont révélés significatifs, au niveau de $P \leq 0,05$. Les paramètres quadratiques X_1 ; X_2 et X_3 sont hautement significatifs, au niveau de $P < 0,01$, alors que les interactions $X_1 X_2$, $X_1 X_3$ et $X_2 X_3$ sont très significatives. En actualisant les paramètres insignifiants, l'équation prédictive du modèle final est la suivante :

$$Y_{opt} = 1,5443 + 0,0623 X_1 + 0,0759 X_2 - 0,02713 X_1 X_2 - 0,0054 X_1 X_3 - 0,0301 X_2 X_3 - 0,1595 X_1^2 - 0,1318 X_2^2 - 0,1783 X_3^2$$

EQUATION PREDICTIVE OPTIMALE (2)

L'analyse de variance (ANOVA) a été effectuée pour évaluer la validité du modèle quadratique ajusté. Le tableau 3 ci-dessous montre les résultats de cette analyse de variance.

Tableau 3 : Résultats des analyses des variances ANOVA

| Source | DDL | Somme des carrés | Moyenne des carrés | F | Pr > F |
|---------------------------------|---------|------------------|--------------------|----------|--------|
| Modèle | 9 | 0,9825 | 0,1092 | 9,9941 | 0,0010 |
| Erreur | 9 | 0,0983 | 0,0109 | | |
| Défaut d'ajustement | 5 | 0,0978 | 0,0196 | 139,5749 | 0,0001 |
| Erreur pure | 4 | 0,0006 | 0,0001 | | |
| Total corrigé | 18 | 1,0808 | | | |
| Coefficient d'ajustement | | | | | |
| R ² | 0,9090 | | | | |
| R ² ajusté | 0,8181 | | | | |
| Cp | 10,0000 | | | | |

Les résultats de l'analyse de variance ANOVA de l'expérience sont donnés dans le tableau 3 ci-dessus, qui montre que le modèle est apparemment significatif avec une valeur de F de 9,9941. Il n'y a que 0,001 % de chance que la valeur de F du modèle aussi élevée puisse se produire en raison du bruit. Le coefficient de détermination R² est de 0,909 ce qui implique que

les variations de l'échantillon de 90,9% pour l'efficacité de l'extraction par MAE de la vanilline dans les gousses. L'extraction par MAE des gousses de vanille est attribuée à des variables indépendantes avec seulement 9,1 % des variations totales non expliquées par le modèle. Selon les études menées par KARAZHUYEN et *al.* en 2011, une valeur de R^2 n'indique pas toujours que le modèle de régression est valable.

Dans un bon modèle statistique, le R^2 ajusté doit être proche de R^2 , comme le montre dans le tableau 3, les valeurs de R^2 et R^2 ajusté sont respectivement 0,909 et 0,8181. La valeur de F à défaut d'ajustement est de 139,5749 signifie que les défauts d'ajustement sont significatifs par rapport à l'erreur pure ($Pr > 0,0001$). En général, les résultats ont indiqué que le modèle pouvait bien fonctionner pour la prédiction du taux de vanilline extraite des gousses de vanille.

Tableau 4 : Les paramètres du modèle

| Paramètres du Modèle | Valeur coefficient estimé | Erreur standard | t | Pr > t | Borne inférieure (95%) | Borne supérieure (95%) |
|-------------------------------|---------------------------|-----------------|---------|----------|------------------------|------------------------|
| Interception (source) | 1,5443 | 0,0467 | 33,0785 | < 0,0001 | 1,4387 | 1,6499 |
| Linéaire | | | | | | |
| X ₁ | 0,0623 | 0,0283 | 2,2039 | 0,0550 | -0,0016 | 0,1263 |
| X ₂ | 0,0759 | 0,0283 | 2,6846 | 0,0250 | 0,0119 | 0,1399 |
| X ₃ | 0,0570 | 0,0283 | 2,0170 | 0,0745 | -0,0069 | 0,1210 |
| Quadratique | | | | | | |
| X ₁ ² | -0,1595 | 0,0283 | -5,6391 | 0,0003 | -0,2235 | -0,0955 |
| X ₂ ² | -0,1318 | 0,0283 | -4,6580 | 0,0012 | -0,1958 | -0,0678 |
| X ₃ ² | -0,1783 | 0,0283 | -6,3015 | 0,0001 | -0,2423 | -0,1143 |
| Interaction | | | | | | |
| X ₁ X ₂ | -0,0271 | 0,0370 | -0,7341 | 0,4816 | -0,1107 | 0,0565 |
| X ₁ X ₃ | -0,0054 | 0,0370 | -0,1455 | 0,8876 | -0,0890 | 0,0782 |
| X ₂ X ₃ | -0,0301 | 0,0370 | -0,8153 | 0,4360 | -0,1137 | 0,0535 |

I.6. L'analyse de surface de réponse

Pour étudier les effets interactifs des variables indépendantes et leur interaction mutuelle sur la récupération de l'extraction de la vanilline dans les gousses, les profils de surface de réponse 3D de modèles de régression non linéaire multiples ont été tracés.

Les traçages des courbes de surface ont été générés en traçant la réponse sur l'axe z par rapport à deux variables indépendantes, la concentration d'éthanol (X₁) et le rapport S/M (X₂), tout en conservant la variable indépendante (la puissance des micro-ondes (X₃) et durée d'extraction) constante respectivement 400 W et 60 minutes.

Les figures 6 et 7 illustrent la relation entre la concentration d'éthanol et chacun des 2 deux autres facteurs (puissance W et rapport S/M) sur le dosage de taux de vanilline. Le pourcentage en vanilline de l'extrait de gousse par le procédé d'extraction MAE est passé de

1,487 à 1,566% de vanilline pour 100g de gousse de vanille. Avec l'augmentation de la concentration en éthanol (de 50 à 90 %) et du rapport S/M de l'extraction (de 20 à 40mL/g), la teneur en vanilline atteint le maximum à 72 % d'éthanol. Le meilleur équilibre entre la concentration d'éthanol et le rapport S/M par l'extraction doit être recherché pour atteindre le taux de vanilline maximum. Comme le montre le tableau 4, la teneur en vanilline des gousses dépend principalement de la concentration en éthanol, car ses effets quadratiques et linéaires sont hautement significatifs ($P < 0,05$), entraînant une augmentation curviligne du rendement en vanilline pour tous les rapports de S/M et la concentration d'éthanol testée.

L'augmentation de la teneur en vanilline a confirmé que la gousse de vanille était plus soluble dans 70% d'éthanol/eau, confirmant les résultats des expériences à facteur unique. L'éthanol pourrait faciliter une augmentation du rendement d'extraction et l'eau pourrait améliorer le gonflement du matériau cellulaire, qui augmente favorablement la surface de contact entre la matrice végétale et le solvant, et entraînant une augmentation du rendement d'extraction [Huang W et *al.*, 2009]. La figure 6 montre l'augmentation progressive du taux de vanilline des gousses avec l'augmentation de la concentration d'éthanol et du rapport liquide/solide d'extraction au début, suivie d'une diminution à des valeurs moyennes. Les données suggèrent que le rapport Solvant/Matière affecte sur l'effet quadratique et linéaire ($P < 0,05$) sur le rendement en vanilline de l'extrait.

Le rendement en extrait riche en vanilline dans les gousses a été maximisé en utilisant un rapport Solvant/Matière de 30,5 mL/g sur une plage d'autres facteurs opérationnels (puissance des micro-ondes et temps d'extraction).

Dans l'extraction par micro-ondes, la puissance des micro-ondes est une variable clé affectant la libération de composés phytochimiques et aromatiques à partir de différentes matrices en rompant la paroi cellulaire, et a eu également la capacité de modifier les conditions d'équilibre et de transfert de masse pendant l'extraction. L'augmentation de la puissance des micro-ondes a accéléré l'extraction de la vanilline dans les gousses [11] ; [16] ; [22].

Comme le montre la figure 7, l'augmentation de la puissance des micro-ondes de 200 à 600 W a entraîné une augmentation progressive des rendements d'extraction de vanille, suivie d'une baisse avec une nouvelle augmentation du rapport Solvant/Matière (au-delà de 30 ml/g). Cette tendance de rendement en vanilline pourrait être attribuée à l'augmentation du transfert de masse décélérant le rapport S/M, en raison de la moindre efficacité de chauffage dans des conditions opératoires de la micro-onde et la solubilité de la vanilline. Comme le montre la Figure 8, lorsque le tracé de surface de réponse 3D a été développé pour la récupération de la vanilline avec des puissances et des rapports S/M variables, la meilleure récupération de la vanilline a été obtenue en utilisant la puissance de la Microonde à 480 W et le rapport S/M 30,5mL/g.

L'effet d'interaction du rapport S/M (X_2) et de la puissance des micro-ondes (X_3) a eu une influence non significative sur la teneur acquise en vanilline ($P > 0,05$). Les effets linéaires et quadratiques de ces paramètres (X_2 , X_3) sont significatifs ($P < 0,01$), tandis que l'effet

synergique est très significatif ($P < 0,01$). La récupération de la vanilline à l'aide de l'énergie des micro-ondes s'est avérée être une fonction de l'effet d'interaction de la puissance d'extraction et du rapport S/M.

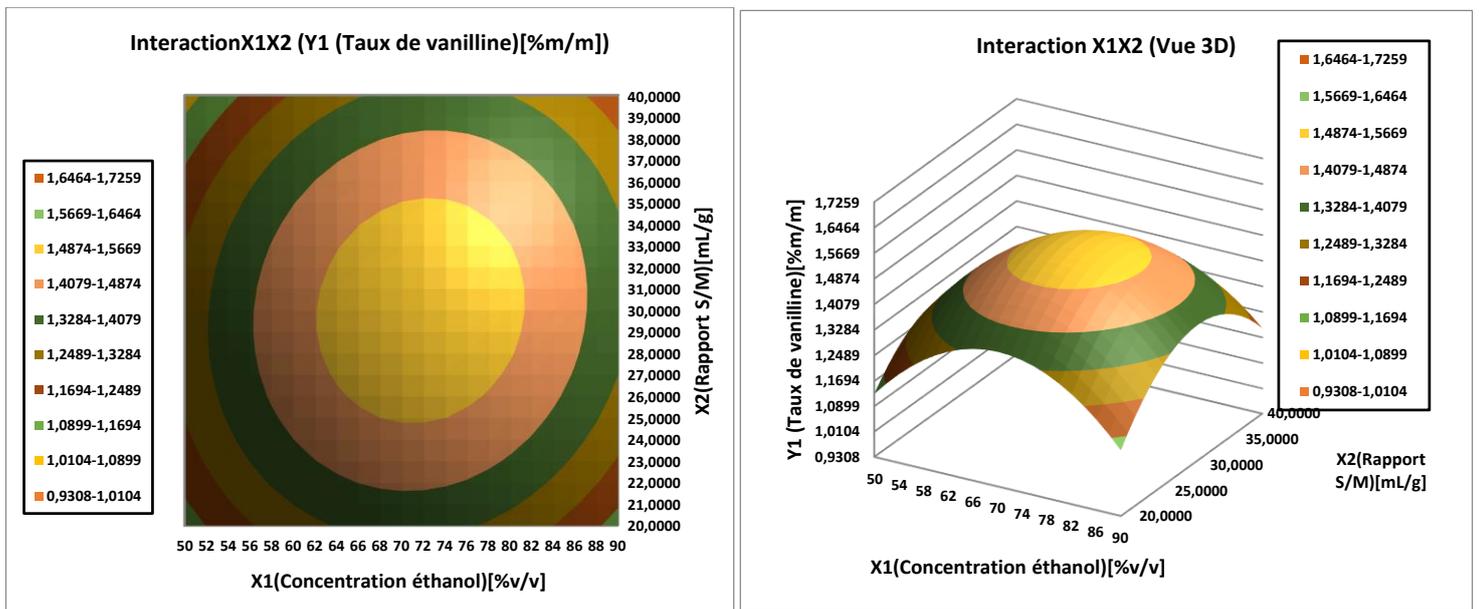


Figure 6 : Analyse de surface de réponse pour la teneur en vanille des gousses de vanille, Interaction Rapport solvant /matière et concentration en éthanol

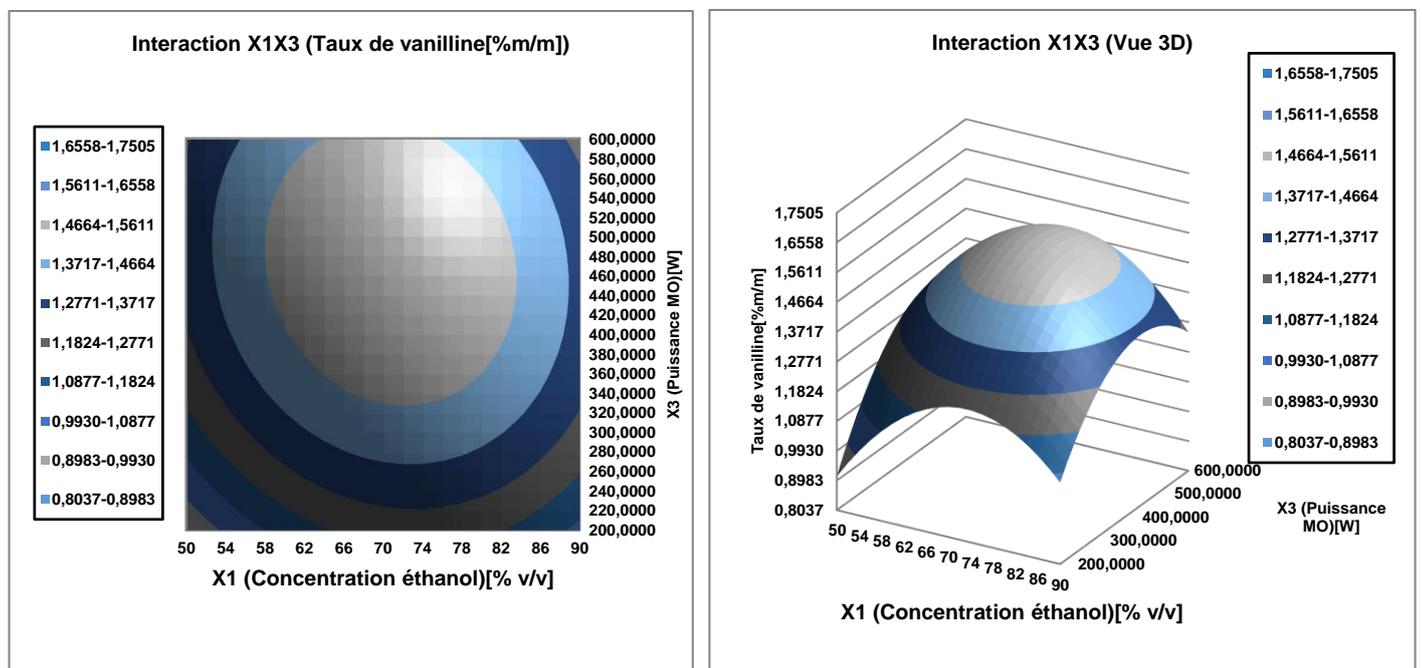


Figure 7 : Analyse de surface de réponse pour la teneur en vanille des gousses de vanille, interaction Puissance MO en W et concentration en éthanol

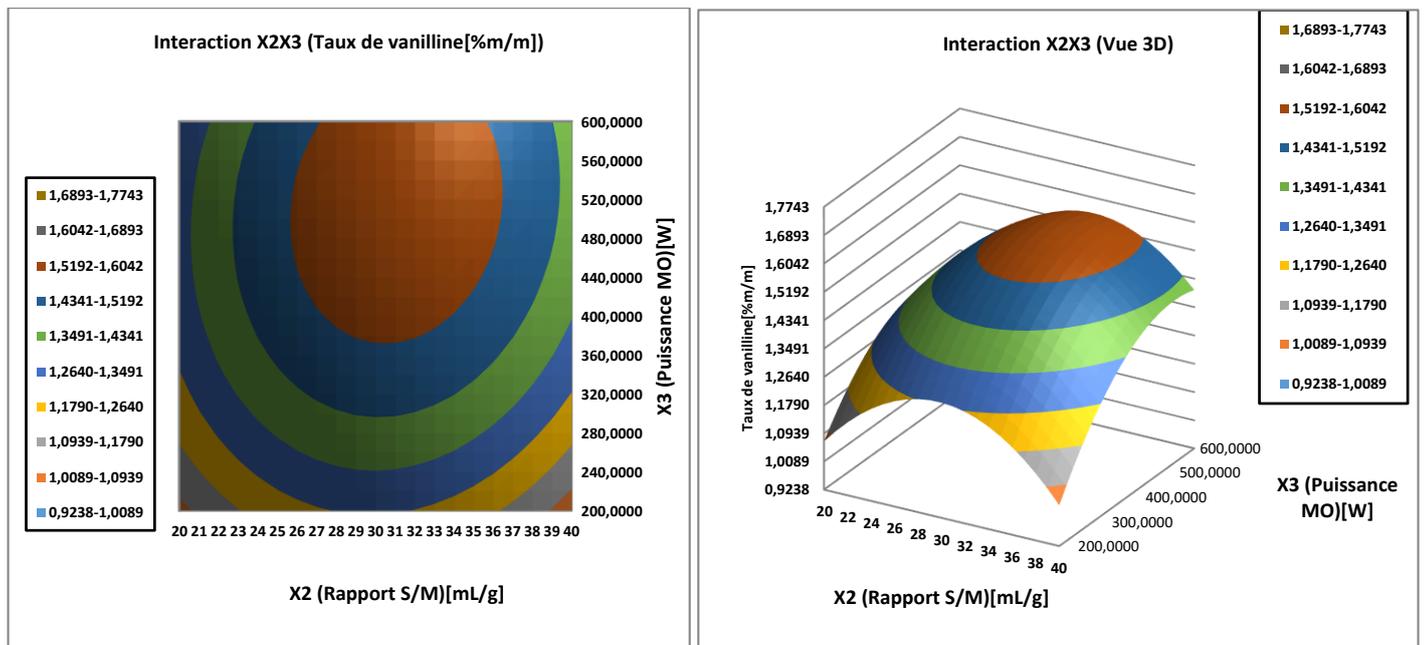


Figure 8 : Analyse de surface de réponse pour la teneur en vanille des gousses de vanille, interaction puissance MO en W et Rapport solvant/Matière

1.7. Validation du modèle prédit

Le point stationnaire, indiquant l'efficacité maximale d'extraction par assistée par microonde de la gousse de vanille, a été obtenu à l'aide d'une expérience avec les valeurs critiques suivantes : concentration en éthanol : 72 % ; puissance micro-onde 480 W ; temps d'irradiation ou d'extraction 60 min ; et rapport solvant Matière 30 ml /g.

La pertinence de l'équation du modèle pour prédire les valeurs de réponse optimales a été testée en utilisant les conditions optimales sélectionnées ci-dessus. Le taux de vanilline prévu de l'échantillon de vanille est de 1,5661% de vanilline, ce qui est cohérent avec la teneur en vanilline expérimentale de 1,524%. Les valeurs prédites sont en accord étroit avec les valeurs expérimentales et se sont avéré non significativement différentes ($P > 0,05$) en utilisant un test t apparié. Les valeurs de réponse prédites s'écartent légèrement des données expérimentales.

CONCLUSION

Le processus d'extraction assistée par micro-ondes couplée à la méthode de surface de réponse (RSM) a été développé dans la présente étude pour extraire la vanilline dans les gousses de vanille de Madagascar et optimiser les conditions d'extraction. D'un point de vue contrôle qualité au laboratoire et industriel, l'application d'une méthode d'extraction par microonde pour l'extraction des composés bioactifs et aromatiques à partir de matériel végétal nécessite un modèle mathématique pour optimiser et prédire le processus afin qu'il remplace les méthodes d'extraction conventionnelles. Des conditions de traitement appropriées et optimisées, telles que l'extraction, sont nécessaires pour une récupération efficace.

Un modèle de régression polynomial de type quadratique est obtenu, les conditions optimales pour la détermination de taux de vanilline dans les gousses de vanille sont les suivantes : concentration en éthanol : 72 % ; puissance micro-onde 480 W ; temps d'irradiation ou d'extraction 60 min ; et rapport solvant /Matière 30 ml /g de solvant.

La présente étude a prouvé que l'extraction assistée par micro-ondes est en effet supérieure aux méthodes d'extraction conventionnelles dans certains avantages tels que la réduction du temps d'extraction, l'abaissement de la température d'extraction, la réduction de l'utilisation de solvant organique, un gain d'énergie et aussi une méthode d'extraction verte qui converse l'environnement. A la suite de notre travail, une validation de méthode d'extraction par microonde de la vanilline dans les gousses par études comparatives avec la méthode conventionnelle le Soxhlet sera effectuée, proposition de procédure d'extraction de vanilline en vue d'une application au laboratoire.

REMERCIEMENTS

Cette étude représente l'achèvement d'une partie d'un travail laborieux mais enrichissant qui n'aurait pas pu voir le jour sans les conseils, l'aide, et la présence de nombreuses personnes. Je tiens ainsi à remercier...

Monsieur Noël RANJATOSON, Directeur du Laboratoire de Chimie et de Microbiologie, du Ministère de l'Industrialisation du Commerce et de la Consommation, qui a été le premier à m'encourager à poursuivre mes études et m'a soutenue pendant mes travaux de recherche au laboratoire et je lui en serai longtemps reconnaissante.

Madame Baholy ROBIJAONA RAHELIVOLOLONIAINA, Professeur à l'Ecole Supérieure Polytechnique d'Antananarivo, mon directeur de thèse, pour m'avoir accueillie dans son équipe et m'avoir guidée, toujours avec beaucoup de patience et de disponibilité. Sans ses conseils, ses remarques et surtout ses relectures, ses corrections minutieuses de la publication, je ne serais certainement pas là où j'en suis. Je voudrais exprimer ici ma gratitude envers eux.

L'équipe Be MIRAY de l'ED GPSIAA et l'équipe du LCM et LCP, mes équipes d'accueil pendant mes années de recherche, pour m'avoir acceptée et offert d'excellentes conditions de travail.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] : V. RAHARIMANGANINDRIANA, La filière vanille Malgache et la fluctuation des prix à l'exportation, Master en Economie, département Economie, Université d'Antananarivo, 2007.
- [2]: N. V. ANDRIAMANAMAMONJY, Relance de la filière vanille en vue d'augmenter la part de marché d'exportation de Madagascar par la catégorisation qualitative suivant l'analyse de sa composition aromatique, DEA, département agro-management, ESSA, Université d'Antananarivo, 2014.
- [3] : CTHT, CIRAD, Projet d'appui à l'amélioration de la Qualité et à la Commercialisation de la Vanille dans le district de Sambava (Madagascar), Qualireg, 2018.
- [4] : A. SINQUIN, T. GÖRNER, E. DELLACHERIE, l'utilisation des micro-ondes en chimie analytique, Laboratoire de Chimie Physique macro moléculaire, URA CNRS, Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques, 1992.
- [5] : D. MEZIANE, Extraction assistée par micro-ondes des antioxydants à partir du *Rosmarinus officinalis* L et de ses coproduits, thèse de doctorat, Université des sciences et de la technologie Houarie Boumediene, 2014.
- [6] : H.KARAZHIYAN, S.M.RAZAVI, G.O.PHILLIPS, Optimisation de l'extraction d'un extrait hydro colloïde de graines de cresson (*Lepidium sativum*) à l'aide de la méthodologie de surface de réponse. *Hydrocoll alimentaire* 25(5):915–920, 2011
- [7] : ALI GHASEMZADEH, HAWA ZE JAAFAR, ASMAH RAHMAT ET MALLAPPA KUMARA SWAMY, Optimisation de l'extraction assistée par micro-ondes de zerumbone à partir de *Zingiber zerumbet* L. Rhizome et évaluation de l'activité antiproliférative d'extraits optimisés. *Chemistry central journal*, 11 (5): 2014
- [8]: YA LI ID, SHA LI, SHENG-JUN LIN, JIAO-JIAO ZHANG, CAI-NING ZHAO and HUA-BIN LI, Microwave-Assisted Extraction of Natural Antioxidants from the Exotic *Gordonia axillaris* Fruit: Optimization and Identification of Phenolic Compounds, *MDPI Journal*, molecular article, 2017
- [9]: B.KAUFMANN; P.CHRISTEN, Recent Extraction Techniques for Natural Products: Microwave-assisted Extraction and Pressurised Solvent Extraction, *phytochemical analysis, Phytochem. Anal.* 13, 105–113, 2002.
- [10]: CHOI-WEN HIEW, LI-JUAN LEE, SILVARA JUNUS, YEN-NEE TAN, TSUN-THAI CHAI, KAH-YAW EE Optimisation de l'extraction assistée par micro-ondes et effet de la micro encapsulation sur l'extrait d'écorce de mangoustan (*Garcinia mangostana* L.), *science et technologie alimentaire*, DOI : <https://doi.org/10.1590/fst.35521>, 2021
- [11]: SARITA KHATKAR, ARUN NANDA, S. H. ANSARI Microwave Assisted Extraction, Optimization using Central Composite Design, Quantitative Estimation of Arjunic Acid and Arjunolic Acid using

HPTLC and Evaluation of Radical Scavenging Potential of Stem Bark of Terminalia arjuna, Natural Product Sciences, 2017

[12]: M.A. BEZERRA, R. SANTELLIA, E.P OLIVEIRA, L.S VILLARA, L.A. ESCALEIRA Response Surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry, Talanta 76 965–977-2008.

[13]: H.RAYMOND; MYERS; DOUGLASC; MONTGOMERY, M CHISTINE; ANDERSON COOK; Response surface methodology, Process and product optimization using design experiments, 4th Edition, 2016.

[14]: MUSTAPHA RGUIG, Méthodologie des surfaces de réponse pour l'analyse en fiabilité des plates-formes pétrolières offshore fissurées, thèse de doctorat, université de Nantes Faculté des sciences et des techniques, 2016

[15]: Xin-She YANG, Optimization Techniques and Applications with Examples, Middlesex University London, 2018.

[16]: JIANMING DAI, microwave-assisted extraction and synthesis Studies and the scale-up study with the aid of FDTD simulation, Department of Bio resource Engineering, Mc Gill University Montreal, QC, Canada, 2006.

[17] : H. RICHARD. Epices et aromates. Collection : sciences et techniques agroalimentaires. Edition : Tec & doc. 339 pages

[18] : Christian J. DUCAUZE, Fraudes alimentaires Approche réglementaire et méthode analytique. Editions : Tec & Doc. Collection : Sciences et techniques agroalimentaires, p.18, 293-296, Paris, 2003.

[19] : R. RAKOTOMALALA, ANOVA à 1 et 2 facteurs Analyse de variance et Planification des expériences, Université Lumière Lyon 2, 2018.

[20] : M. CARBON, Cours d'Analyse de la Variance, Département de Mathématiques et Statistique, Université de Laval, 2015.

[21]: PETER C. MEIER and RICHARD E. ZUND, Statistical Methods in Analytical Chemistry, volume 153, Second Edition, 2000.

[22] : HAMZI & GUENFIS, Optimisation de l'extraction assistée par micro-ondes des composés phénoliques des graines de tomates par la méthodologie de surface de réponse, Master en Sciences Alimentaires, Université A. MIRA – Bejaia, 2015