

RECHERCHE DES FACTEURS LES PLUS INFLUENTS SUR LE RENDEMENT ET LA QUALITE DE L'AGAR-AGAR DE *GRACILARIA GRACILIS*

Rafik BEN SAID¹, E. NACEF et K. MARZOUGUI

Institut National des Sciences et Technologies de la Mer (INSTM), Annexe Khéreddine.29,

Rafik.bensaid@instm.rnrt.tn

ملخص

دراسة العوامل الأكثر تأثيراً على المردود والجودة على أغرة الطحالب الحمراء من جنس *Gracilaria gracilis* : تمت هذه الدراسة على الطحالب الحمراء من جنس *Gracilaria gracilis* والتي تم جمعها من بحيرة بنزرت. وتهدف إلى البحث عن العوامل الأكثر تأثيراً (باستعمال أو عدم استعمال 2-بروبانول) على الأغرة من حيث المردود والجودة وذلك بتطبيق منهجية نماذج التجارب. وهذه العوامل سبعة وهي نسب تركيز كل من الكحول (2-بروبانول) والحامض الكبريتي والصودا والمدة الزمنية لعملها وأخيراً نسبة تركيز ماء الجافال. وقد بينت النتائج أن المردود الأمثل للأغرة (36.4%) تم الحصول عليه بتركيز 2% من البروبانول. أما قوة الجمد القصوى (385 غ/صم²) والدنيا (35 غ/صم²) فقد تم تسجيلها باستعمال تركيز البروبانول يقدر على التوالي بـ 10% و 2%. أما درجة التجمد فقد تراوحت بين 21 و 35 درجة مئوية. و أما درجة الانصهار فقد تراوحت بين 69 و 95 درجة مئوية. وقد بينت هذه الدراسة أن استعمال الكحول من نوع 2-بروبانول له تأثير إيجابي على النتائج المتحصل عليها من حيث المردود وجودة الغرة المستخرجة.

كلمات مفاتيح : *Gracilaria gracilis*، العوامل المؤثرة، الأغرة، 2-بروبانول

RESUME

Cette étude réalisée sur l'algue rouge *Gracilaria gracilis* de la lagune de Bizerte a pour objectif la recherche des facteurs les plus influents (avec et sans alcool : le 2-propanol) sur le rendement et la qualité de l'agar, en appliquant la méthodologie des plans d'expériences. Les facteurs étudiés sont en nombre de sept : la concentration de l'alcool (2-propanol), l'acide sulfurique (H_2SO_4), la soude (NaOH), le temps d'action de chacun et finalement la concentration de l'eau de javel. Les résultats ont montré que le rendement optimum en agar (36,4 %) a été obtenu avec une concentration de 2 % de 2-propanol. Les forces de gel, maximale (385 g/cm²) et minimale (35 g/cm²) ont été enregistrées respectivement avec 10 % et 2 % de 2-propanol. Le point de gélification a varié entre 21°C et 35°C. Quant au point de fusion, il a fluctué entre 69°C et 95°C. Cette étude a mis en évidence l'effet positif de l'ajout du 2-propanol sur les résultats obtenus concernant le rendement et la qualité du phycocolloïde extrait.

Mots-clés : *Gracilaria gracilis*, facteurs influents, agar-agar, 2-propanol

ABSTRACT

Research of the most influential factors on the performance and quality of *Gracilaria gracilis* agar-agar :
This study aims at searching the influent factors (with or without the alcohol 2, propanol) on agar yield and quality of the red alga *Gracilaria gracilis* of Bizerte Lagoon. Seven factors were studied: the concentration and the action time of each of the alcohol (2-propanol), sulfuric acid (H_2SO_4), soda (NaOH) and finally the concentration of bleach. Results showed that the highest agar yield (36.4 % dry weight) was recorded using a concentration of 2% of 2-propanol. The highest (385 g/cm²) and lowest (35 g/cm²) gel strength were obtained using 10% and 2% of 2-propanol, respectively. Gelling temperature ranged from 21°C to 35°C. Melting temperature varied from 69°C and 95 °C. This study has depicted the positive effect of the 2-propanol on agar yield and rheological properties of agar from *G. gracilis*.

Keywords: *Gracilaria gracilis*, influent factors, agar, 2-propanol

INTRODUCTION

Les algues sont utilisées depuis des millénaires par les populations littorales, notamment pour leurs hautes valeurs nutritives. Elles ont des qualités nutritionnelles semblables, voire supérieures, à celles des légumes terrestres. Elles contiennent beaucoup d'oligoéléments dont l'iode, des antioxydants (fucoxanthine), des flavonoïdes et des acides phénoliques. Les phytostérols des algues permettraient de réduire le taux de mauvais cholestérol dans l'organisme (Barnabé, 2016). Aujourd'hui, les algues constituent un enjeu majeur de développement économique dans plusieurs pays du monde. La production mondiale des plantes

aquatiques, constituées essentiellement d'algues a atteint 30,1 millions de tonnes en 2016, avec une valeur de 11,7 milliards de dollars américains (FAO, 2018). Le premier débouché mondial en valeur et en volume de la production algale concerne le domaine alimentaire. En effet, la consommation directe des algues en tant que légumes s'élève à 75 % de cette production (Marfaing, 2004). Parmi les milliers d'espèces de macro algues marines connues, classées selon leur couleur verte, rouge ou brune, quelques dizaines seulement sont utilisées et de plus en plus recherchées pour différentes fins. C'est le cas de l'algue rouge *Gracilaria*, dont la production a augmenté de 75% entre 1993 et 2014 pour atteindre 4,15 millions de tonnes en 2016 (FAO, 2018). Les

algues rouges sont connues et exploitées pour leurs composés polysaccharidiques, principaux constituants matriciels de leur paroi cellulaire, dont les propriétés texturantes leur confèrent des applications industrielles importantes et multiples. En effet, les principales substances extraites sont les polysaccharides de la famille des agars, des carraghénanes et des alginates dont les propriétés physicochimiques gélifiantes ou stabilisantes intéressent de nombreux secteurs industriels. Ces polysaccharides sont extraits directement à partir des parois cellulaires de plusieurs algues brunes et rouges telles que *Laminaria*, *Chondrus* et *Kappaphycus* (Pérez, 1997 ; Zuldin *et al.*2016). La rhodophycée *Gracilaria* représente donc parmi plusieurs autres algues rouges, une source économique importante de polysaccharides (agar-agar) qui, de par leur taille et leur complexité ne peuvent être synthétisées de manière artificielle. Cette algue est donc très réputée à l'échelle mondiale pour la production de ce phycocolloïde. Pour cette raison, elle est récoltée du milieu naturel et également cultivée artificiellement pour l'extraction de l'agar-agar (Rebello *et al.*1996; Bixler & Porse 2011). En effet, la production mondiale de ce phycocolloïde a atteint 14500 T en 2015 et 80 % de l'agar mondial provient de *Gracilaria* (Bixler & Porse, 2011; Araujo *et al.*2014; Porse & Rudolph, 2017).

En Tunisie, l'Institut National des Sciences et Technologies de la Mer (INSTM) a donné depuis un peu plus deux décennies une importance aux recherches sur les algues, en particulier la rhodophycée *Gracilaria gracilis* (*verrucosa*), en raison de son pouvoir de produire un agar de qualité. Plusieurs travaux ont été réalisés sur cette algue et ont concerné aussi bien la culture (Ksouri *et al.* 1999 ; 2000 ; Mensi *et al.*2009 ; Ben Saïd *et al.*2018) que l'extraction de l'agar-agar (Ben Saïd et Ksouri, 1999 ; Ben Saïd *et al.*2015) et la phycoérrhine (Mensi *et al.*2012).

Ce présent travail se situe donc dans le cadre de l'évaluation et l'amélioration du rendement et de la qualité de l'agar-agar obtenu à partir de *Gracilaria gracilis* (*=verrucosa*) récoltée dans la lagune de Bizerte, en utilisant la méthodologie des plans d'expériences, en présence ou non d'un alcool (2-propanol).

MATERIEL ET METHODES

Le matériel biologique utilisé est l'algue rouge *Gracilaria gracilis* (*= verrucosa*) provenant de la lagune de Bizerte au niveau de Menzel Jémil (Fig. 1). La méthode globale d'extraction et d'évaluation de la qualité de l'agar-agar suivie est celle décrite par Ben Saïd et Ksouri (1999) et qui comprend les principales étapes suivantes : la collecte puis le nettoyage des



Figure 1: *Gracilaria gracilis* (*=verrucosa*)

algues et le séchage à l'étuve à 60°C jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant. Par la suite, les algues (15g) sont mises dans une solution acide (H₂SO₄) à 0,05 N pendant 2 H. Après rinçage à l'eau de robinet, les algues sont mises à chauffer à 100 °C pendant 80min. Après broyage et filtration, l'extrait est mis en congélation pendant 24 h, puis en décongélation durant 2-4h. Le film d'agar obtenu est décoloré par l'eau de javel (2-3min) puis rincé à l'eau de robinet et enfin séché à l'étuve à 105 °C jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant. Le rendement d'extraction est estimé selon la formule suivante :

Rendement (R%)=

(Poids d'agar sec/ Poids de l'algue sèche)*100

L'étude de la qualité de l'agar (force de gel, point de gélification et point de fusion) est effectuée en se basant sur la méthode décrite par Ben Saïd et Ksouri (1999).

Méthodologie des plans d'expériences

Les plans d'expériences sont employés dans le but d'étudier simultanément l'effet de nombreux facteurs sur une ou plusieurs réponses expérimentales choisies avec un minimum d'essais. Dans ce travail, nous avons appliqué la méthodologie des plans d'expériences pour l'extraction de l'agar-agar en présence ou non d'un alcool (2-propanol) afin de comparer les résultats entre les 2 méthodes et voir quels sont les facteurs qui influencent le plus le rendement et la qualité des extraits obtenus. A cet effet, les calculs et les graphiques nécessaires ont été réalisés grâce au logiciel NEMROD (Mathieu *et al.*, 2000).

1^{ère} expérimentation: Méthode d'extraction sans alcool (2-propanol)

Les facteurs étudiés et susceptibles d'influencer le rendement et la qualité de l'agar-agar sont en nombre de 5 :

X₁ : Concentration en H₂SO₄.

X₂ : Temps d'action de H₂SO₄.

X₃ : Concentration en NaOH.

X₄ : Temps d'action de NaOH.

X₅ : Concentration en eau de javel.

La température d'extraction dans la solution de NaOH a été fixée à la température d'ébullition (100°C). Deux (2) niveaux ont été fixés pour chaque facteur: -1et +1.

Les niveaux de variation et le plan d'expérimentation sont consignés dans les (Tableaux I et II).

Tableau I : Niveaux de variation des facteurs étudiés (sans alcool)

Facteur	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅
Niveau - 1	0,01N	30min	0,01N	30min	2°
Niveau+1	0,07N	120min	0,07N	120min	6°

Tableau II: Plan d'expérimentation (sans alcool)

N°Essai	Concentration de H ₂ SO ₄ (X1)	Temps d'action de H ₂ SO ₄ (X2)	Concentration de NaOH (X3)	Temps d'action de NaOH (X4)	Concentration en eau de javel (X5)
1	0,07	120	0,07	30	6
2	0,07	120	0,07	30	6
3	0,07	120	0,07	30	6
4	0,01	120	0,07	120	2
5	0,01	120	0,07	120	2
6	0,01	120	0,07	120	2
7	0,01	30	0,07	120	6
8	0,01	30	0,07	120	6
9	0,01	30	0,07	120	6
10	0,07	30	0,07	120	6
11	0,07	30	0,07	120	6
12	0,07	30	0,07	120	6
13	0,01	120	0,01	30	6
14	0,01	120	0,01	30	6
15	0,01	120	0,01	30	6
16	0,07	30	0,01	30	2
17	0,07	30	0,01	30	2
18	0,07	30	0,01	30	2
19	0,07	120	0,01	120	2
20	0,07	120	0,01	120	2
21	0,07	120	0,01	120	2
22	0,01	30	0,01	30	2
23	0,01	30	0,01	30	2
24	0,01	30	0,01	30	2

2^{ème} expérimentation : Méthode d'extraction avec alcool (2-propanol)

Au cours de cette expérimentation, l'effet du 2-propanol a testé. Dans ce cas, cet alcool a été utilisé avant la déminéralisation des algues à l'H₂SO₄. Sept facteurs ont été étudiés:

X₁ : Concentration en alcool (2-propanol).

X₂ : Temps d'action de l'alcool

X₃ : Concentration en H₂SO₄

X₄ : Temps d'action du H₂SO₄

X₅ : Concentration en NaOH

X₆ : Temps d'action de NaOH

X₇ : Concentration en eau de javel

Les niveaux de variation et le plan d'expérimentation dans ce cas sont consignés dans les Tableaux III et IV.

Tableau III: Niveaux de variation des facteurs étudiés (avec alcool : 2-propanol)

Facteur	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	X ₆	X ₇
Niveau -1	2%	30 min	0,01N	30min	0,01N	30min	2°
Niveau+1	10%	120 min	0,07N	120min	0,07N	120min	6°

Tableau IV: Plan d'expérimentation (avec alcool : 2-propanol)

N°Essai	Concentration en alcool %	Temps d'action de l'alcool	Concentration de H ₂ SO ₄	Temps d'action de H ₂ SO ₄	Concentration de NaOH	Temps d'action de NaOH	Concentration en eau de javel
1	10	120	0,07	30	0,07	30	2
2	10	120	0,07	30	0,07	30	2
3	10	120	0,07	30	0,07	30	2
4	2	120	0,07	120	0,01	120	2
5	2	120	0,07	120	0,01	120	2
6	2	120	0,07	120	0,01	120	2
7	2	30	0,07	120	0,07	30	6
8	2	30	0,07	120	0,07	30	6
9	2	30	0,07	120	0,07	30	6
10	10	30	0,01	120	0,07	120	2
11	10	30	0,01	120	0,07	120	2
12	10	30	0,01	120	0,07	120	2
13	2	120	0,01	30	0,07	120	6
14	2	120	0,01	30	0,07	120	6
15	2	120	0,01	30	0,07	120	6
16	10	30	0,07	30	0,01	120	6
17	10	30	0,07	30	0,01	120	6
18	10	30	0,07	30	0,01	120	6
19	10	120	0,01	120	0,01	30	6
20	10	120	0,01	120	0,01	30	6
21	10	120	0,01	120	0,01	30	6
22	2	30	0,01	30	0,01	30	2
23	2	30	0,01	30	0,01	30	2
24	2	30	0,01	30	0,01	30	2

RESULTATS ET DISCUSSION

Extraction sans alcool

Réponse Y1 : Rendement

Le rendement d'extraction a varié entre 4,02 % (essai n° 13) et 33,75 % (essai n° 11) (Tableau V).

Les calculs fournis par le logiciel permettent d'écrire le modèle mathématique du premier degré suivant, en fonction des 5 facteurs étudiés

$$Y_1 = 15,724 + 2,440 X_1 - 2,433 X_2 - 2,119 X_3 + 0,608 X_4 - 0,142 X_5$$

En analysant la figure 2, nous observons que les coefficients les plus élevés du modèle sont associés

aux facteurs suivants : X₁ (concentration en H₂SO₄), avec un effet positif (+2.44) suivis du temps d'action de H₂SO₄ (X₂), mais avec un effet négatif (-2.43). Le troisième facteur ayant une influence importante sur le rendement, c'est la concentration en NaOH (X₃), avec un effet négatif (-2.12).

Les effets du temps d'action de NaOH (X₄) et de la concentration en eau de javel (X₅) sont faibles. Donc, pour augmenter le rendement, il faut prendre la concentration en H₂SO₄ à son niveau supérieur (0,07 N), tandis que pour la durée d'action de H₂SO₄ et la concentration en NaOH, il faudrait les maintenir à leurs niveaux inférieurs (soit respectivement 30 min et 0,01 N).

Tableau V: Résultats globaux du rendement et de la qualité de l’agar sans alcool (2-propanol)

N°Essai	R (%)	FG(g/cm ²)	PG (C°)	PF (C°)
1	11,26	165	35	82
2	15,48	205	26	95
3	9,20	155	32	85
4	13,32	255	30	90
5	9,072	115	35	99
6	5,39	105	26	99
7	15,25	165	30	97
8	12,08	255	29	97
9	15,53	255	27	96
10	29,68	115	29	94
11	33,75	170	29	98
12	11,46	105	26	82
13	4,013	135	26	85
14	28,17	355	30	92
15	7,22	285	29	90
16	19,00	205	22	99
17	21,54	145	25	98
18	15,24	35	30	80
19	23,38	105	27	87
20	20,86	155	29	89
21	12,24	105	25	85
22	19,10	205	28	97
23	17,19	145	29	95
24	13,10	255	28	99

R : rendement d’extraction ; **FG** : force de gel ; **PG** : point de gélification ; **PF** : point de fusion.

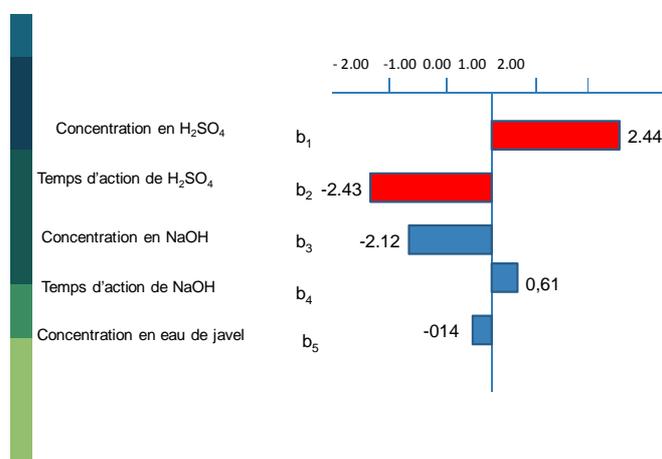


Figure 2: Etude graphique des effets de la réponse Y1 : Rendement d’extraction

Réponse Y₂ : Force de gel

La force de gel moyenne la plus élevée a été obtenue avec l’essai n°14, tandis que la force de gel moyenne la plus faible a été enregistrée avec l’essai n°18 (Tableau V). Le modèle mathématique du premier degré correspondant est le suivant :

$$Y_2 = 174,583 - 36,250 X_1 + 3,750 X_2 - 3,333 X_3 - 15,833 X_4 + 22,500 X_5$$

La figure 3 permet de simplifier l’interprétation du modèle. En effet, le coefficient le plus élevé en valeur absolue est relié au facteur X₁: concentration en H₂SO₄. C’est le facteur le plus influent. Mais, le coefficient étant négatif, montrant que si on veut augmenter la force de gel, il faudrait maintenir la concentration en H₂SO₄ à son niveau inférieur (0,01 N). Le deuxième facteur le plus influent est la concentration en eau de javel (X₅). Donc, pour augmenter la force de gel, il faudrait maintenir cette

dernière à son niveau supérieur (6°). Le troisième facteur le plus influent, mais de moindre importance, c’est la durée d’action de NaOH (X₄). Il faudrait la maintenir à son niveau inférieur (30 min). Quant au temps d’action de H₂SO₄ et la concentration en NaOH, leurs effets sont faibles, voire négligeables.

Réponse Y₃ : Point de gélification

Le point de gélification a varié entre 22°C (essai n° 16) et 35°C (essai n° 15) (Tableau V) et le modèle du 1^{er} degré correspondant s’écrit sous la forme :

$$Y_3 = 28,208 - 0,708 X_1 + 0,958 X_2 + 0,292 X_3 + 0,292 X_4 + 0,792 X_5$$

La figure 4 montre les effets des 5 facteurs étudiés sur le point de gélification.

Dans ce cas, le facteur le plus influent est le temps d’action de H₂SO₄ (X₂), avec un effet positif (+0,96), suivi par le facteur X₅ (concentration en eau de javel) avec aussi un effet positif (+0,79).

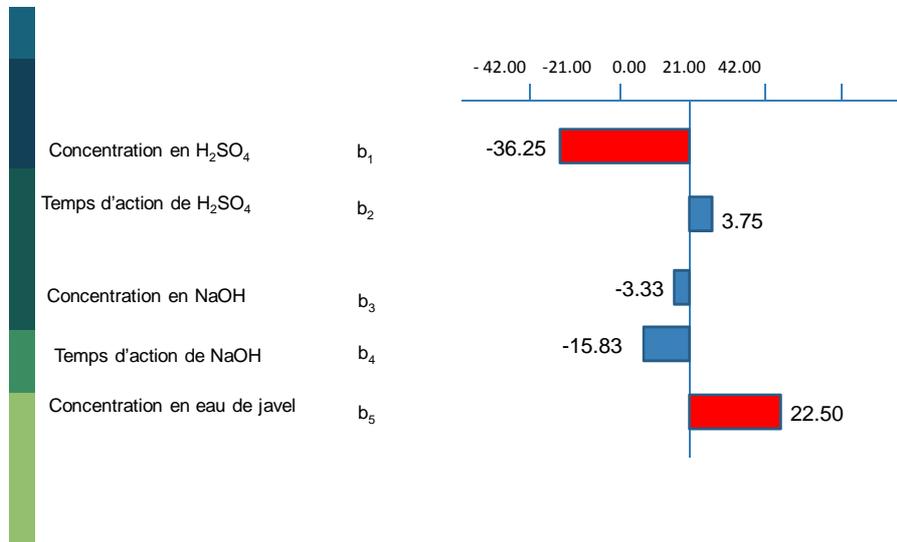


Figure 3 : Etude graphique des effets de la réponse Y₂ : Force de gel

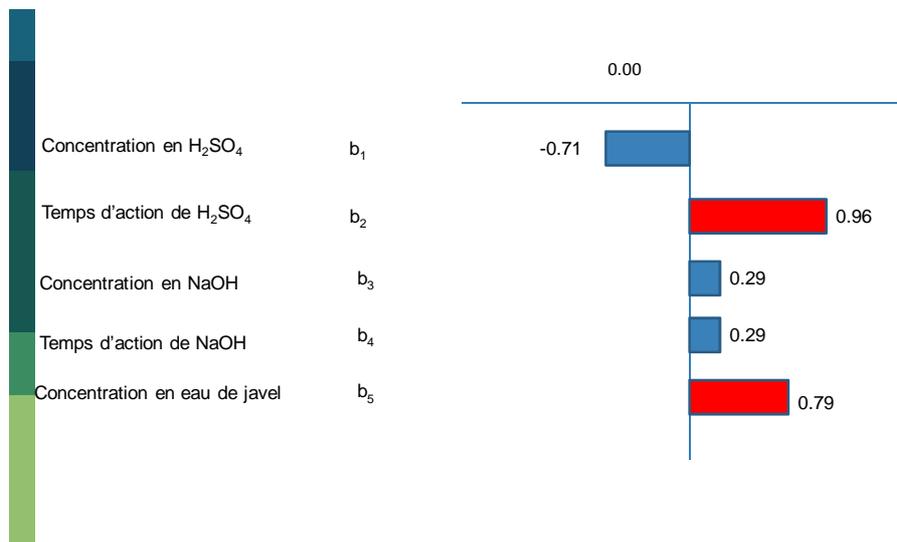


Figure 4 : Etude graphique des effets de la réponse Y₃ : Point de gélification

La concentration en H₂SO₄ vient en 3^{ème} position, mais avec un effet négatif (-0.71). La concentration de NaOH et le temps d'action de celle-ci ont des effets positifs et égaux mais peu importants (+0,29). Donc, pour augmenter le point de gélification, il faudrait maintenir tous les facteurs à leur niveau supérieur, notamment le temps d'action de H₂SO₄ (120 min) et la concentration en eau de javel (6°), à l'exception de la concentration en H₂SO₄ qui doit être maintenue à son niveau inférieur (0,01 N).

Réponse 4 : Point de fusion

Le point de fusion a varié entre 80°C (essai n° 17) et 99°C (essai n° 5, 6,16, 24) (Tableau V). Le point de fusion le plus élevé a été obtenu avec les essais n°5, 6, 16 et 24, tandis que le point de fusion le plus faible a été enregistré avec l'essai n°18. Les coefficients du modèle du 1^{er} degré associé à la réponse Y₄ : point de fusion s'écrit sous la forme :

$$Y_4 = 91,667 - 2,167 X_1 - 2,667 X_2 + 0,583 X_3 + 0,250 X_4 - 0,583 X_5$$

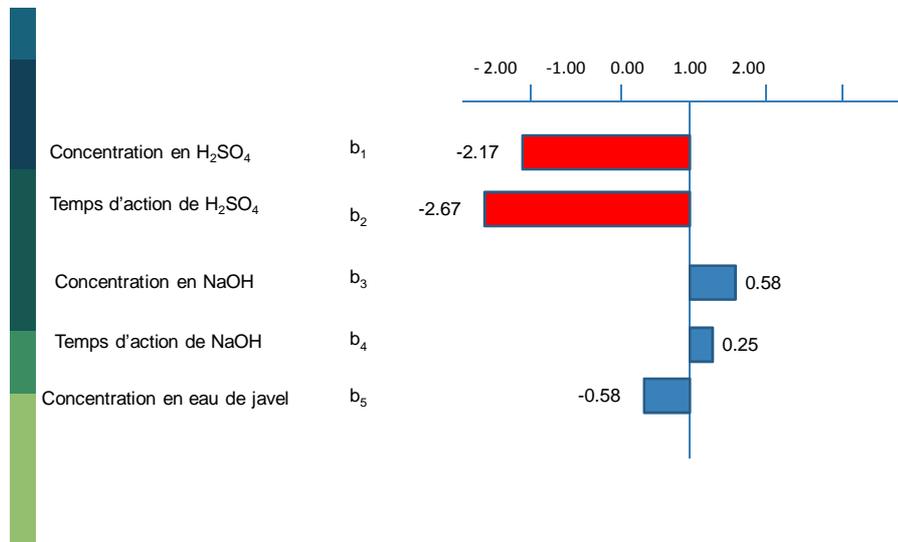


Figure 5 : Etude graphique des effets de la réponse Y4 : Point de fusion

Extraction avec alcool (2-propanol)

Réponse Y₁ : Rendement

Les résultats obtenus sont consignés dans le Tableau VI. Le rendement d'extraction a varié entre 3,39 % (essai n° 2) et 36,37 % (essai n° 6).

Les calculs donnés par le logiciel permettent d'établir le modèle d'additivité de premier degré suivant :

$$Y_1 = 18,008 - 2,093 X_1 - 0,754 X_2 - 0,615 X_3 + 1,197 X_4 - 3,418 X_5 + 3,508 X_6 + 1,947 X_7$$

L'interprétation de ce modèle est rendue facile en examinant la figure 6. En effet, le facteur X₆ : temps d'action de NaOH représente l'effet le plus influent, suivi du facteur X₅ (concentration en NaOH). Cependant, leurs effets sont opposés, leurs coefficients sont presque égaux en valeur absolue. Le facteur ayant une influence importante en 3^{ème}

La figure 5 représente les effets principaux des 5 facteurs étudiés sur le point de fusion. Deux facteurs semblent être les plus influents. Ce sont le temps d'action de H₂SO₄ (X₂) et la concentration de cet acide (X₁), avec des coefficients négatifs, soit respectivement -2,67 et -2,17. Pour les autres facteurs, leurs effets sont plus faibles, voire négligeables. Donc, pour augmenter le point de fusion, il faudrait maintenir la concentration et le temps d'action de H₂SO₄ à leur niveau inférieur (respectivement 0,01 N et 30 min), ainsi que celle de l'eau de javel (2°). En revanche, la concentration et le temps d'action de NaOH, doivent être légèrement maintenus à un niveau légèrement supérieur au centre du domaine expérimental (soit respectivement 0,05 N et 80 min). Pour l'eau de javel, il faudrait maintenir la concentration légèrement inférieure au centre du domaine (environ 3°).

position est le facteur X₁(concentration en 2-propanol), avec un coefficient égal à (-2,09). Le 4^{ème} facteur ayant une influence importante est la concentration en eau de javel (X₇). Les trois autres facteurs ont une influence faible voire négligeable. Donc, pour augmenter le rendement, il faudrait maintenir la concentration en 2-propanol à son niveau inférieur, c'est-à-dire une concentration qui se situe aux environs de 2 %. Il en est de même pour la concentration en NaOH qui doit être maintenue à 0,01 N. En revanche, il faudrait maintenir la durée d'action de NaOH à son niveau supérieur (120 min).

Réponse Y₂ : Force de gel

Les résultats consignés dans le Tableau VI montrent que la force de gel a varié entre 35 g/cm² (essais n° 7, 17 et 18) et 385 g/cm² (essai n° 20). Les coefficients

Tableau VI: Résultats globaux du rendement et de la qualité de l'agar avec utilisation de l'alcool (2-propanol)

N° Essai	R (%)	FG (g/cm ²)	PG (C°)	PF(C°)
1	6,46	135	29	91
2	3,39	110	27	89
3	5,98	105	24	93
4	15,68	35	22	69
5	25,07	105	26	84
6	36,37	195	27	91
7	24,94	35	26	71
8	9,42	105	26	88
9	17,48	205	34	90
10	15,11	210	35	92
11	13,77	205	30	90
12	23,38	230	29	90
13	17,79	260	31	94
14	13,56	325	27	90
15	33,46	235	31	95
16	16,32	205	29	95
17	36,21	35	23	75
18	21,07	35	21	72
19	26,75	175	32	87
20	18,70	385	34	94
21	13,44	295	30	98
22	10,99	295	27	90
23	14,18	210	31	91
24	31,95	185	25	80

R: rendement d'extraction ; **FG :** force de gel ; **PG :** point de gélification ; **PF :** point de fusion

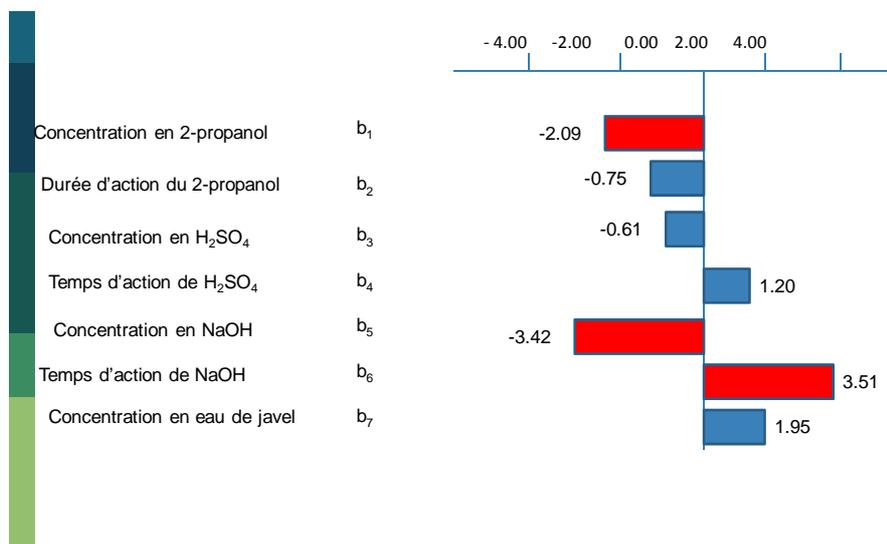


Figure 6 : Etude graphique des effets de la réponse Y1 : Rendement d'extraction

du modèle du 1^{er} degré représentant la variation de la réponse Y₂ (force de gel) en fonction des 7 facteurs étudiés figurent dans l'équation qui s'écrit de la façon suivante :

$$Y_2 = 171,458 + 4,375X_1 + 10,208X_2 - 79,375X_3 - 5,208X_4 + 7,292X_5 - 13,958 X_6 + 18,125 X_7$$

L'interprétation du modèle est facilitée par la figure 7 qui représente les effets des facteurs étudiés. Sur cette figure, il paraît clairement que la concentration en H₂SO₄ (X₂) représente le facteur le plus influent sur la

force de gel (-79,38). Les autres facteurs sont de plus faible influence.

Donc, pour augmenter la force de gel, il faudrait maintenir la concentration en H₂SO₄ à son niveau inférieur (0,01 N). Pour les autres facteurs, ils peuvent être maintenus soit légèrement supérieurs ou inférieurs au centre du domaine expérimental.

Pour le 2-propanol, on doit maintenir la concentration et la durée d'action légèrement supérieures au centre du domaine (respectivement 6-7% et 80-90 min).

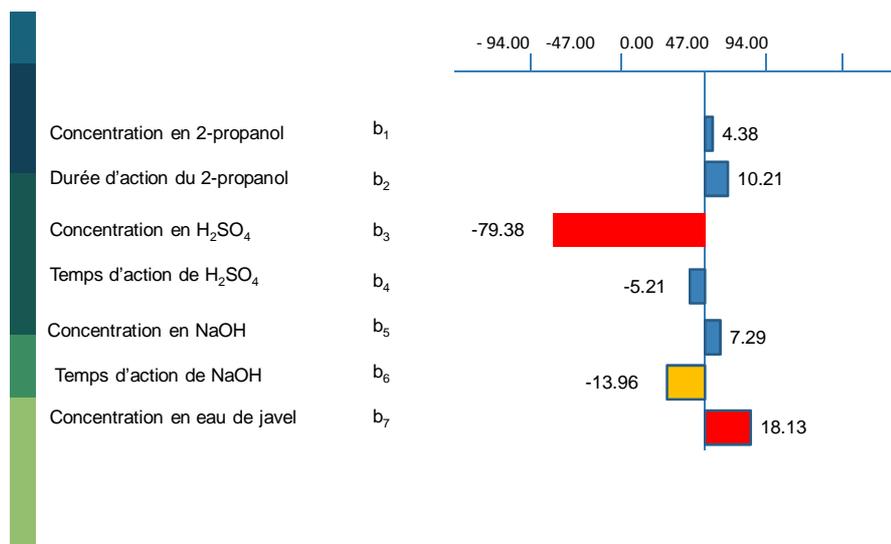


Figure 7 : Etude graphique des effets de la réponse Y₂ : Force de gel

Réponse Y₃ : Point de gélification

Le tableau VI montre que le point de gélification a varié entre 21°C (essai n° 18) et 35°C (essai n° 10). Les valeurs des coefficients du modèle d'additivité de

1^{er} degré associé à la réponse Y₃ (point de gélification) sont les suivants :

$$Y_3 = 28,250 + 0,417X_1 + 0,250X_2 - 1,917 X_3 + 1,083 X_4 + 0,750 X_5 - 0,417 X_6 + 0,417 X_7$$

La figure 8 représente les effets des 7 facteurs étudiés.

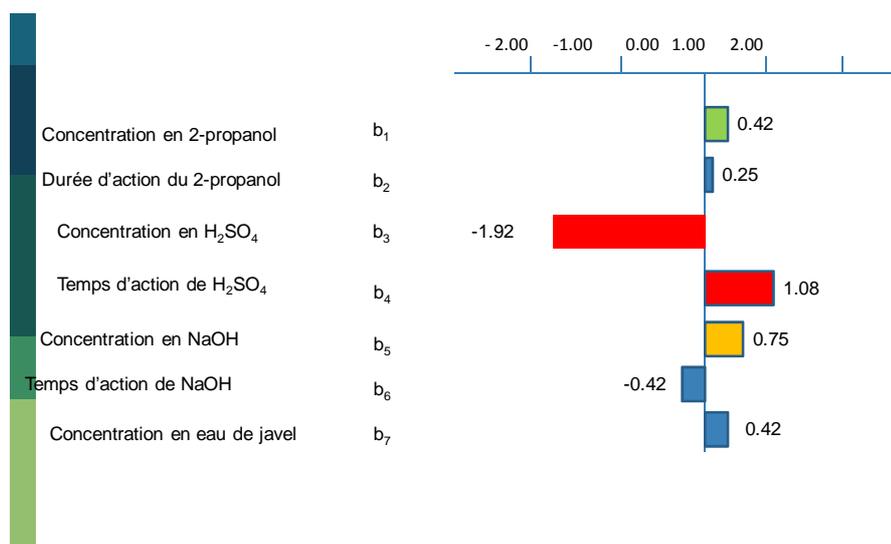


Figure 8 : Etude graphique des effets de la réponse Y₃ : Point de gélification

On y voit clairement que la concentration en H₂SO₄ (X₃) représente l'effet le plus influent sur le point de gélification (-1.92). Le deuxième facteur le plus influent est la durée d'action de H₂SO₄ (X₄), suivi par la concentration en NaOH (X₅). La concentration en 2-propanol (X₁) et celle de l'eau de javel (X₇) représentent des effets positifs similaires mais d'une assez faible importance. La durée d'action de NaOH (X₆) a un effet de même importance mais de façon antagoniste

Donc, pour augmenter le point de gélification, il faudrait maintenir la concentration en H₂SO₄ à un niveau inférieur (0,01 N). Par contre, il faudrait laisser l'acide agir pendant environ 120min (niveau supérieur du domaine). Pour la concentration en NaOH, il faudrait la maintenir à son niveau supérieur pour augmenter la réponse (0,07 N).

Réponse Y₄ : Point de fusion

Les résultats obtenus montrent que le point de fusion a varié entre 69°C (essai n° 4) et 98°C (essai n°21). Les coefficients du modèle du 1^{er} degré associé à la réponse Y₄ : Point de fusion apparaissent dans l'équation suivante :

$$Y_4 = 87,042 + 1,792 X_1 + 1,042 X_2 - 3,875 X_3 - 0,875 X_4 + 3,042 X_5 - 2,125 X_6 + 1,042 X_7$$

L'interprétation de cette équation est facilitée par la figure 9. Cette dernière montre qu'il y a 2 facteurs qui sont les plus influents, à savoir la concentration en H₂SO₄ (X₃) et la concentration en NaOH (X₅).

Ces deux facteurs sont presque de même poids, mais ayant des effets opposés. Le 3^{ème} facteur le plus influent est la durée d'action de NaOH (X₆). Vient en 4^{ème} position la concentration en 2-propanol (X₁), avec un effet positif. Donc, pour augmenter la réponse (point de fusion), il faudrait maintenir la concentration en H₂SO₄ (X₃) à son niveau inférieur (0,01 N), ainsi que la durée d'action de NaOH (X₆), soit 30 min. En revanche, il faudrait maintenir la concentration en NaOH (X₅) et celle du 2-propanol (X₁) à leur niveau supérieur (respectivement 0,07 N et 10 %).

Le Tableau VII résume les valeurs maximales obtenues du rendement d'extraction, de la force de gel du point de gélification et du point de fusion, aussi bien avec ou sans utilisation de l'alcool (2-propanol).

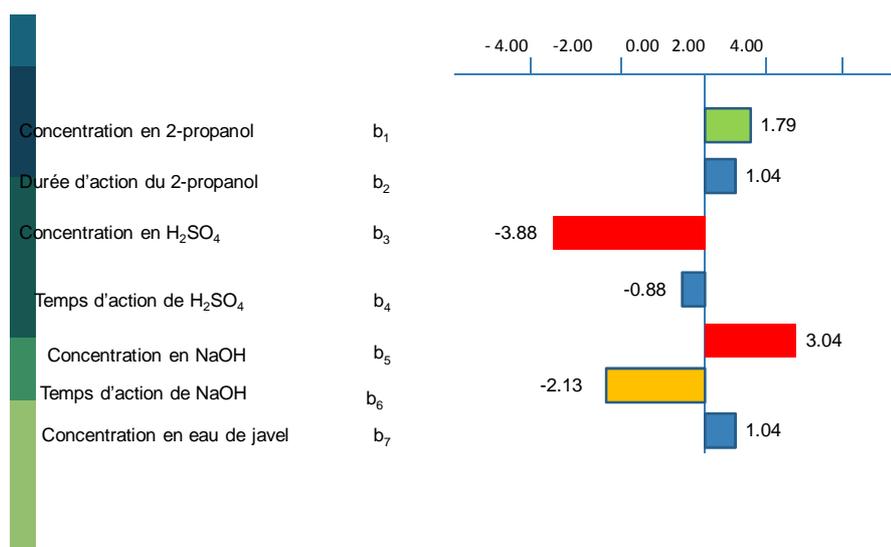


Figure 9 : Etude graphique des effets de la réponse Y₄ : Point de fusion

Tableau VII: Récapitulatif des valeurs maximales obtenus du rendement et de la qualité de l'agar, avec et sans utilisation de l'alcool (2-propanol) selon les essais expérimentaux

Paramètre étudié	Sans alcool	Avec alcool
Rendement d'extraction (%)	33,75 (essai n°11)	36,37 (essai n°6)
Force de gel(g/cm ²)	355 (essai n°14)	385 (essai n°20)
Point de gélification (°C)	35 (essai n°15)	35 (essai n°10)
Point de fusion (°C)	99 (essais n°5 ; 6 ; 16 ; 24)	98 (essai n°21)

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats obtenus au cours de l'application de la méthodologie des plans d'expériences ont montré que l'ajout du 2-propanol a une influence assez nette, notamment sur le rendement d'extraction et sur le point de fusion. Par conséquent, il faudrait maintenir la concentration du 2-propanol à un niveau inférieur au centre du domaine (soit une concentration de 2 %) afin d'augmenter le rendement. Il en est de même pour la durée d'action de cet alcool. Dans ce cas, une durée de l'ordre de 20 à 30 min serait suffisante à avoir un rendement maximum. Pour le point de fusion, il faudrait maintenir aussi bien la concentration en alcool que sa durée d'action à des niveaux relativement supérieurs au centre du domaine (soit respectivement 5 % et 80 min). Les résultats montrent aussi que l'ajout du 2-propanol a une influence sur la force de gel et le point de gélification dans certaines conditions (soit respectivement les essais n°20 et 10). Les résultats obtenus sont relativement supérieurs à ceux obtenus sans alcool, notamment pour la force de gel. Dans ces conditions, la concentration et la durée d'action du 2-propanol seraient relativement supérieurs au centre du domaine, soit respectivement 5% et 80 min. Des travaux antérieurs ont montré l'effet positif de l'action du 2-propanol sur la qualité de l'agar-agar de *Gracilaria*, notamment sur la force de gel (Aouida *et al.* 2008). Ceci est du vraisemblablement au caractère polaire de l'alcool qui affecte la solubilité des différents types de polymères constituant la molécule d'agar-agar, en plus de la température et des autres facteurs étudiés., à l'instar de ce qui a été enregistré par Mouradi-Givernaud (1992), travaillant sur l'agarophyte *Gelidium latifolium*. Par ailleurs, des travaux sur *Gelidium spinosum* ont été réalisés en utilisant la méthodologie des plans d'expériences (Ben Said *et al.* 2012) et ont montré l'influence de plusieurs facteurs sur le rendement et la qualité de l'agar extrait, notamment le temps d'extraction et la pression à l'intérieur de l'autoclave. Malheureusement, peu de travaux ont concerné les études sur les facteurs les plus influents agissant sur le rendement et les propriétés rhéologiques des phycocolloïdes extraits à partir des différents groupes d'algues marines (Toqueboeuf, 1991 ; Mouradi-Givernaud, 1992 Abbas, 2000). Ceci rend difficile la comparaison avec des travaux antérieurs. Concernant l'eau de javel (Hypochlorite de sodium), son utilisation en tant que décolorant est connue dans les industries textiles et dans les ménages. Dans le domaine phycologique, la littérature reste muette sur son application ainsi que la concentration à utiliser ou la durée de son action sur l'agar extrait. Toutefois, ce produit (eau de javel) a été utilisé dans notre laboratoire sur la même algue *Gracilaria gracilis*, depuis quelques années (Ben Said *et al.* 2018) et a

montré son efficacité sur la dépigmentation des extraits obtenus

Dans le futur, l'utilisation de 2-propanol à une concentration de 2% dans l'extraction de l'agar-agar à partir de l'algue rouge *Gracilaria gracilis* est recommandée pour avoir un rendement maximum et une concentration de 10 % pour avoir une force de gel maximale. Pour le temps d'action de l'alcool, une durée de 120 min est convenable aussi bien pour le rendement que la force de gel. Pour l'eau de javel, une concentration de 2 % permet simultanément le blanchissage de l'agar-agar extrait et d'éviter sa dégradation. Cette étude a montré que parmi les sept facteurs étudiés, il s'est avéré que quatre semblent être les plus influents. Ce sont : la concentration en 2-propanol, NaOH, H₂SO₄ et la durée d'action de NaOH. Une phase d'optimisation de ces quatre facteurs les plus influents dans une étape ultérieure est fortement souhaitable. Pour ce faire, d'autres plans d'expériences basés sur les surfaces de réponses tels que le plan composite central, Box-Wilson (connu sous le nom de Plan Central Composite), Doehlert, Behnken, etc., permettraient de connaître les conditions optimales pour les réponses désirées au cours d'une expérimentation donnée. Dans ce cas, les résultats expérimentaux seront sous forme d'une fonction polynomiale du second degré.

BIBLIOGRAPHIE

- Abbas A. 2000. Propriétés et potentialités de valorisation de nouveaux alginates à haute viscosité. Thèse de Doctorat. Université de Provence. France. 153 p.
- Aouida N., Ben Said R., M'rabet R. 2010. Etude de l'effet de l'alcool isopropylique sur le rendement et la qualité de l'agar-agar de *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss. *Proceedings of the 4th Mediterranean Symposium on Marine Vegetation*. 151-152.
- Araujo FO., Ursi S., Plastino EM. 2014. Intraspecific variation in *Gracilaria caudata* (Gracilariales, Rhodophyta): growth, pigment content, and photosynthesis. *J. Appl. Phycol.* 26:849-858.
- Barnabé G. 2016. Ecologie et aménagement des eaux marines. Le potentiel des océans et des mers. Lavoisier Tec& Doc. France. 473 p.
- Ben Said R., Ksouri J. 1999. La rhodophycée *Gracilaria verrucosa* du lac de Bizerte (Tunisie): Variations mensuelles de la biomasse, du rendement d'extraction et de la qualité de l'agar. *Bull. INSTM*. 26:127-136.
- Ben Said R., Romdhane MS., El Abed A., M'rabet R. 2012. Recherche des facteurs les plus influents sur l'agar-agar de *Gelidium spinosum* (S.G. Gmelin) P.C. Silva. *Afrique science*. 8. (2) : 113-130.

- Ben Said R., Aouini H., Akrouf F. 2015. La rhodophycée *Gracilaria gracilis* de la lagune de Bizerte (Tunisie) : Variations spatio-temporelles de quelques facteurs hydrobiologiques, du rendement et de la qualité de l'agar-agar. *Afrique Science*. 11(5): 317-334.
- Ben Said R., Mensi F., Majdoub H., Ben Said A., Ben Said B., Bouraoui A. 2018. Effects of depth and initial fragment weights of *Gracilaria gracilis* on the growth, agar yield, quality and biochemical composition. *Journal of Applied Phycology*. 30(4) :2499-2512. DOI : 10.1007/s10811-018-1414-5.
- Bixler HJ., Porse H. 2011. A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *J.Appl.Phycol*. 23:321-335.
- FAO. 2018. La situation mondiale des pêches et de l'aquaculture. Atteindre les objectifs de développement durable. Rome. Licence CC BY-NC-SA.3.0 IGO
- Ksouri J., Ben Said R., Pellegrini M. 1999- Résultats des cultures expérimentales de rhodophycée *Gracilaria verrucosa* dans le lac de Bizerte. Tunisie Septentrionale. *Bull. INSTM*. 26 : 113-125. .
- Ksouri J., Mensi F., Ben Said R. 2000. Ajustement de certains paramètres de culture par bouturage de *Gracilaria verrucosa* (algue rouge), dans le lac de Bizerte. *Bull. INSTM*. .27: 69-74.
- Marfaing H. 2004. Les algues dans notre alimentation : Intérêt nutritionnel et utilisations. Revue de nutrition pratique. Dietcom Bretagne. CEVA.1-9.
- Mathieu D., Nony J., Phan Tan-Luu R.2000. Logiciel Nemrod. Version 2000.LPRAI. Marseille. France.
- Mensi F., Ksouri J., Hammami W., Romdhane MS.2009. L'algue rouge *Gracilaria verrucosa* (Hudson) papenfuss de la lagune de Bizerte (Tunisie septentrionale) : Essai de culture en mode suspendu et composition biochimique. *Bull INSTM*. 36: 125-137
- Mensi F., Ksouri J., Seale E., Romdhane MS, Fleurence J. 2012. A statistical approach for optimization of R-phycoerythrin extraction from the red alga *Gracilaria verrucosa* by enzymatic hydrolysis using central composite design and desirability function. *J Appl Phycol* 24:915-926
- Mensi F., Ghédifa A, 2019. Optimum ranges of combined abiotic factors for *Gracilaria gracilis* aquaculture. *J. Appl. Phycol*.DOI.10.1007/s10811-019 -01826-5.
- Mouradi-Givernaud A.1992. Recherches biologiques et biochimiques pour la production d'agarose chez *Gelidium latifolium* (Grév.) Thuret et Bornet (Rhodophycées, Gélidiales). Thèse de Doctorat d'Etat Sciences. Université de Caen. France.351 p.
- Pérez R. 1997. Ces algues qui nous entourent. Conception actuelle, rôle dans la biosphère, utilisation, culture. IFREMER.272p.
- Porse H., Rudolph B. 2017. The seaweed hydrocolloid industry/ updates, requirements, and outlook. *J. Appl. Phycol*.29:2187-2200.DOI 10..1007/s10811-017-1144-0
- Rebello J., Ohnon M., Critchley AT. & Sawamura M. 1996. Growth rates and agar quality of *Gracilaria gracilis* (Stackhouse) Steentoft from Namibia, Southern Africa. *Bot.Mar*. 39 : 273-279 .
- Toqueboeuf J.1991. Modélisation de formulation à base d'alginate en agro-alimentaire. Première approche des potentialités d'utilisation des alginophytes méditerranéennes. Thèse de doctorat. Université d'Aix-Marseille II. Fac. Sc. Luminy.150p.
- Zuldin WH., Yassir S., Shapawi R. 2016. Growth and biochemical composition of *Kappaphycus* (Rhodophyta) in customized tank culture system. *J. Appl. Phycol*. .DOI 10.1007/s10811-016-0792-9.