République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

UNIVERSITEDr.YAHIAFARES–MEDEA



DEPARTEMENT DE GENIE DES PROCEDES ET ENVIRONNEMENT

THESE DE DOCTORAT

En Génie des Procédés
Spécialité : **Génie des Procédés**

Thème

Modification et fonctionnalisation des polymères en vue de leurs applications dans des formulations aqueuses

Présentée par :
Naila TERKMANE

Soutenu devant le jury composé de

Mr M. Anoun	Professeur	Univ- Médéa	Président
Mr H. Boutoumi	Professeur	Univ-Blida	Examinateur
Mr H. Khalef	Professeur	Univ-Blida	Examinateur
Mr M. Krea	Professeur	Univ- Médéa	Directeur de thèse
Mr N. Moulai Mostefa	Professeur	Univ- Médéa	Co- Directeur de thèse

Médéa, Mai 2017

Résumé

Des nouveaux dérivés (IN-X) ont été préparés par estérification des inulines extraites à partir de trois sources végétales (akènes d'artichauts, tubercules de topinambour et racines de chicorée) et une source fongique (truffes de désert). L'optimisation de l'extraction de l'inuline a été réalisée en utilisant la méthodologie des plans d'expériences. Cette approche a permis d'appréhenderl'effet des différents facteurs (température, temps d'extraction, rapport pondéral et le mode de chauffage) sur le rendement d'extraction, la viscosité des inulines ainsi que leur solubilité. Un rendement de 45.98% en inuline et une viscosité de 3.25ml/g ont été obtenu à une température de 89.49°C ; un temps d'extraction de 120min, un rapport pondéral de 5.01% en utilisant le procédé de chauffage par induction électromagnétique (EMIH).Ces valeurs ont été considérées comme optimales.L'utilisation de la solution de sulfate de magnésium (2%) comme solvant d'extraction à la place de l'eau distillée a réduit le temps d'extraction de 120min à 75min, tout en gardant le même rendement d'extraction. Les inulines extraites ont été modifiées chimiquement par estérification avec le xanthane en milieu homogène. Des degrés d'estérification allant de 0.26 à 0.59 ont été obtenus pour un rapport molaire xanthane /inuline de 0.5 et un temps de réaction de 24h. Les propriétés physicochimiques des dérivés obtenus ont été évaluées par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier et par mesure des propriétés antioxydantes et rhéologiques. Les hydrogels antioxydants préparés à partir des dérivés possèdent une capacité de gonflement réduite comparée à celle des hydrogels à base de xanthane native.

Mots clés : Antioxydant, Extraction, Gonflement, Hydrogel, Inuline, Modification chimique, Optimisation, Xanthane.

Abstract

New derivatives (IN-X) were prepared by esterification of inulin extracted from three plants (Globe artichoke heart, Jerusalem artichoke tubers and chicory roots) and a fungal source (desert truffles). Optimization of inulin extraction was carried out using the experimental design methodology.This approach allowed to apprehend the effect of different factors (temperature, extraction time, weight ratio and heating mode) on the extraction yield, the viscosity of the inulin and their solubility. A yield of 45.98% in inulin and a viscosity of 3.25 ml/g was obtained at a temperature of 89.49°C, an extraction time of 120 min, a weight

ratio of 5.01% using the Electromagnetic Induction Heating process (EIMH). These values were considered optimal. The use of the magnesium sulfate solution (2%) as an extraction solvent instead of distilled water reduced the extraction time from 120 min to 75 min, without any effecton extraction yield. Extracted inulin was chemically modified by esterification with xanthan in a homogeneous medium. Degrees of esterification ranging from 0.26 to 0.59 were obtained for a xanthan/inulin molar ratio of 0.5 and a reaction time of 24h. The physicochemical properties of obtained derivatives were evaluated by Fourier transform infrared spectroscopy and by measuring the antioxidant and rheological properties. The antioxidant hydrogels prepared from the derivatives have a reduced swelling capacity compared to that of the native xanthan-based hydrogels.

Keywords : Antioxydant, Extraction,swelling, Hydrogel, Inuline, Chemical modification, Optimization, Xanthane.

ملخص

تمتحضير مشتقات جديدة (IN-X) عن طريق أسترةإنولينات مستخلصة من ثلاث مصادر نباتية (قلب الخرشوف، درنات دوار الشمس الدرني، جذور الهندباء). تمالإستخلاصالأمثلللإنولينباستخدامالتصميمالتجريبي. ساعد هذا النهج على فهم تأثير العوامل المختلفة (درجة الحرارة، وقت الاستخلاص، نسبة الوزن، ونوع التدفئة) على مردودالإستخراج، لزوجةالإنولين وذوبانها. تم الحصول على مردود 45.98 % من الانولين ذات لزوجة تقدر بـ 3.25 مل/غ عند درجة حرارة 89.49°م، وقت استخلاص يقدر بـ 120 دقيقة، و نسبة وزن قدرها 5.01 % و باستعمال التدفئة بالتحريض الكهرومغناطيسي(EMIH). هذهالقيماختيرتكشروطمثالية. استخدام محلول كبريتات المغنيسيوم (2%)بدلا من الماء المقطر يقلل من وقت الإستخلاص من 120 إلى 75 دقيقة، مع المحافظة على نفس مردود الإستخراج.الإنولينات المستخرجة تم تعديلها كيميائيا بواسطة الأسترة مع الكزانتان (xanthane) في وسط متجانس. درجات الأسترة التي تم الحصول عليها تتراوح ما بين 0.26 و 0.59 مع نسبة مولية كزانتان/انولين 0.5 و مدة زمنية للتفاعل تقدر بـ 24 ساعة. كما تمت دراسة الخصائص الفيزيائية والكيميائية للمشتقات المتحصل عليها بواسطة الأشعة المطيافية تحت الحمراء ومن خلال قياس الخصائص المضادة للأكسدة و الانسيابية. المواد الهلامية المضادة للأكسدة التي أعدت انطلاقا من المشتقات اظهرتانخفاض في قدرة التضخم بالمقارنة مع الهلاميات المحضرة من الكزانتانالأصلي.

كلمات مفاتيح :مضاد الأكسدة،إستخلاص، تضخم ،مواد هلامية،إ نولين، تعديل كيميائي،الأمثلية،التصميمالتجريبي،كزانتان.

Remerciements

Il m'est impossible et ça serait vraiment prétentieux de ma part de citer l'ensemble des personnes grâce auxquelles j'ai tant appris et qui par leur soutien matériel et moral, par leur bonté et leur générosité ont permis à ce travail de voir enfin le jour. Je tiens à ce que chacune d'elles trouve ici l'expression d'un hommage sincère. Que celles qui ne figurent pas ci-après ne pensent point à un oubli ou à une ingratitude de ma part.

Je tiens sincèrement à apporter toute ma reconnaissance a mes directeurs de thèse Mr Mohamed KREA et Mr Nadji MOULAI MOSTEFA, Professeurs à l'université de Médéa, pour m'avoir encadré. Je leur suis reconnaissante de la confiance et de l'autonomie qu'ils m'ont accordée, ainsi que de leur totale disponibilité etleurs précieux conseils qui m'ont permis de mener à bien cette thèse.Néanmoins, ces quelques mots ne sont pas suffisants pour exprimer toute ma gratitude.

Je remercie vivement Mr M. ANOUN, Professeur à l'université de Médéa, d'avoir accepté de présider mon jury. Je remercie également Mr H. BOUTOUMI, Professeur à l'université de Blida, Mr H. KHALEF, Professeur à l'université de Blida, d'avoir pris le temps d'examiner ce modeste travail.

J'adresse mes remerciements à Mme K. Khouatmiani, Maitre-assistant à l'université de Khemismiliana, et Mme S. KeracheLefnaoui pour leur soutient et leur savoir-faire à chaque fois que je les sollicite.

Les travaux de recherche présentés dans cette thèse ont été réalisés au sein du laboratoire de recherche matériaux et environnement ainsi qu'aux laboratoires de Hall Technologie de l'université de Médéa. Un amical remerciement à tout le personnel deslaboratoires qui m'a accueilli chaleureusement, et avec lesquelles j'ai passé un agréable séjour.

Pour leur contribution à cette étude, j'associe à ces remerciements le personnel du service DRX du centre de recherche nucléaire d'Alger (CRNA).

Enfin j'aimerais dédier cette thèse à ma famille en général, et mes parents, mestantes et mes cousines en particulier pour m'avoir soutenu et encouragé tout au long de mes études.

TABLE DES MATIERES

RESUME
REMERCIEMENTS
TABLE DES MATIERES
LISTE DES TABLEAUX
LISTE DES FIGURES
SYMBOLES ET ABREVIATIONS
INTRODUCTION GENERALE 1

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE
I. 1. Introduction ……...…….4
I. 2. Inuline ……...4
I.2.1. Localisation de l'inuline dans la cellule végétale……4
I.2.2. Structure de l'inuline……7
I.2.3. Sources de l'inuline……10
I.2.3.1. Chicorée…….. 11
I.2.3.2. Topinambour……....12
I.2.3.3. Dahlia (Dahlia pinnata)……....13
I.2.4. Métabolisme de l'inuline……14
I.2.5. Propriétés de l'inuline……16
I.2.5.1. Propriétés physico-chimiques……..16
I.2.5.2. Propriétés nutritionnelles et sanitaires……21
I.2.6. Applications de l'inuline……24
I.2.6.1. Applications agro-alimentaires……24
I.2.6.2. Applications pharmaceutiques……25
I.3. Extraction de l'inuline ……..29
I.3.1. Prétraitement de la matière végétale……..29
I.3.2. Extraction et purification primaire……..…30
I.3.3. Purification secondaire……...30
I.3.4. Récupération de l'inuline……...30
I.3.5. Analyse et caractérisation structurale de l'inuline……31
I.4. Modification chimique de l'inuline ……..33
I.4.1. Cyanoéthylation de l'inuline……..34
I.4.2. Estérification de l'inuline……...35

I.4.3. Ethérification de l'inuline……...36
I.4.4. Méthylation de l'inuline ……...….38
I.4.5. Synthèse des carbamates d'inuline ……....38
I.4.6. Synthèse des carbonates d'inuline ……39
I.4.7. Couplage de l'inuline avec les acides aminés ……....40
I.4.8. Carboxyméthylation d'inuline ……...40
I.4.9. Synthèse des phosphates d'inuline ……41
I.4.10. Oxydation de l'inuline ……42
I.4.10.1. Oxydation avec $NaIO_4/NaClO_2$ ……42
I.4.10.2. Oxydation avec l'hypochlorite de Sodium ……...43
I.4.10.3. Oxydation avec le Platinium (Pt) ……44
I.4.10.4. Oxydation avec TEMPO ……..44
I.4.11. Modification cationique de l'inuline ……..45
I.4.12. Réticulation de l'inuline ……45
I.4.13. Greffage des molécules antioxydantes ……...46
I.5. Applications des dérivés d'inuline ……..47
I.6. Conclusion ……..….49

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES
II.1. Introduction ……50
II.2. Matériel.……...…50
II.2.1. Matériel biologique……..50
II.2.1.1. Artichauts……...50
II.2.1.2. Racines de chicorée……52
II.2.1.3. Topinambour……..53
II.2.1.4. Truffes de désert……53
II.2.2. Matériel non biologique……....54
II.2.2.1. Gomme xanthane.....54
II.2.2.2. Produits chimiques utilisés.....55
II.2.2.3. Petit matériel.....56
II.3. Extraction de l'inuline .....……57
II.3.1. Détermination du taux d'humidité des matières végétales 57
II.3.2. Procédure de l'extraction de l'inuline.....57
II.3.2.1. Diffusion dans l'eau chaude 57
II.3.2.2. Purification du filtrat 59

II.3.2.3. Récupération de l'inuline 59
II.4. Planification des expériences de l'extraction de l'inuline 62
II.4.1. Mise au point du plan d'expérience 62
II.4.2. Méthodes de calcul des variables de réponses 63
II.4.3. Extraction des inulines à partir des autres sources 65
II.4.4. Effet de la force ionique sur le rendement d'extraction 66
II.5. Caractérisation physico-chimique de l'inuline 66
II.5.1. Taux d'humidité 66
II.5.2. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) 67
II.5.3. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB) 67
II.5.4. Analyse structurale par Diffraction des rayons X (DRX) 67
II.5.5. Identification par chromatographie sur couche mince 67
II.5.6. Mesure viscosimétrique- Estimation de la masse moléculaire 68
II.5.7. Dosage des sucres par colorimétrie 68
II.6. Modification chimique de l'inuline 69
II.6.1. Caractérisation du xanthane 69
II.6.1.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR) 69
II.6.1.2. Mesure viscosimétrique 69
II.6.2. Estérification de l'inuline 69
II.6.2.1. Etude du rapport molaire xanthane/inuline 69
II.6.2.2. Détermination du degré d'estérification 70
II.6.2.3. Etude de la cinétique d'estérification 70
II.6.2.4. Estérification des inulines extraites 70
II.6.3. Caractérisation physico-chimique des dérivés obtenus 71
II.6.3.1. Caractérisation par spectroscopie FTIR 71
II.6.3.2. Activité antioxydante par DPPH 71
II.6.3.3. Evaluation des propriétés rhéologiques des dérivés 71
II.6.4. Valorisation des dérivés inuline-xanthane 72
II.6.4.1. Préparation des pastilles 72
II.6.4.2. Détermination du taux de gonflement des gels 72
II.6.4.3. Détermination du taux d'érosion des hydrogels obtenus 72

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION
III.1. Introduction 73
III.2. Etude statistique 73

III.3. Optimisation de l'extraction de l'inuline 76
III.3.1. Détermination de taux d'humidité des matières végétales 76
III.3.2. Spécification du domaine de variation des conditions d'extraction 77
III.3.3. Analyse statistique 78
III.3.4. Influence du mode de chauffage sur le rendement d'extraction 83
III.3.5. Analyse des courbes en surface de réponses et en 3D 84
III.3.6. Sélection et validation des conditions optimales d'extraction 87
III.4. Caractérisation physico-chimique des inulines extraites 88
III.4.1. Rendement d'extraction et taux d'humidité des inulines extraites 88
III.4.2. Analyse structurale 90
III.4.2.1. Spectres infrarouges (FTIR) de l'inuline 90
III.4.2.2. Analyse structurale par microscopie électronique à balayage (MEB) 91
III.4.2.3. Cristallinité des échantillons d'inuline 93
III.4.3. Caractérisation des contenus saccharidiques 94
III.4.3.1. Estimation des sucres totaux par la méthode d'Anthrone 94
III.4.3.2. Estimation du fructose par la méthode de Résorcinol 96
III.4.3.3. Chromatographie sur couche mince 98
III.4.4. Caractérisation moléculaire des inulines extraites 98
III.4.5. Effet de la force ionique sur le rendement d'extraction 100
III.5. Modification chimique des inulines 101
III.5.1. Caractérisation du xanthane utilisé 101
III.5.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier 102
III.5.1.2. Caractérisation moléculaire 102
III.5.2. Optimisation de la modification chimique de l'inuline industrielle 103
III.5.2.1. Détarmination du degré d'estérification 105
III.5.2.2. Influence de temps de réaction sur le degré d'estérification 105
III.5.3. Caractérisation des dérivés inuline-xanthane obtenus 107
III.5.3.1. Caractérisation par spectroscopie infra-rouge à transformé de Fourier 107
III.5.3.2. Estimation de l'activité antioxydante 108
III.5.3.3. Etude rhéologique 110
III.5.5. Evaluation des propriétés de gonflement et d'érosion des hydrogels formulés 111
III.5.6. Conclusion 114

CONCLUSION GENERALE 115
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES FIGURES

Figure I.1	Aperçu schématique de l'accumulation des fructanes dans les vacuoles	6
Figure I.2	Interaction entre les fructanes et la membrane lipidique : A) les fructanes se déplacent vers la membrane plasmique, B) et C) insertion defructanes dans la double couche lipidique, D) protection de la membrane contre la dégradation, F) représentation de la coordination entre 1,1 nystose et une molécule lipidique en utilisant la dynamique moléculaire	7
Figure I.3	Structure chimique de l'inuline (a) GF_n , (b) F_n.**n** est le degré de polymérisation ou le nombre d'unités β-D fructofuranose	7
Figure I.4	Structure chimique des oligo-fructoses : kestose, nystose et fructofuranosyl-nystose	8
Figure I.5	Relation entre molécules de l'inuline par simulation in silico. A) diagramme en bâton d'une molécule d'inuline (GF8) : O (rouge), C (gris), H (blanc), glucose (jaune). B) diagramme en espace rempli d'une molécule d'inuline : nuage des électrons de fructose (gris),et celui de glucose (jaune). C) diagramme en bâton d'une lamelle de 7 molécules d'inuline. D) et F) diagrammes en espace rempli d'une lamelle de 7 molécules d'inuline	9
Figure I.6	Production mondiale estimée des racines de chicorée (Selon l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO)	12
Figure I.7	Compartimentation du métabolisme de l'inuline dans les tubercules de *H. tuberosus* L. en phase de développement (A), de repos et de germination (B). Modèle proposé par Frehner et *al.*	16
Figure I.8	Solubilité maximale des inulines en fonction de la température	17
Figure I. 9	Hydrolyse de trois types d'inuline à un pH de 3.5 et température de 20°C	19
Figure I.10	Force du gel par rapport à la concentration de l'inuline native (DP 9), inuline à longue chaîne à partir de racines de chicorée (DP 25) et d'inuline à partir de *Cynarascolymus* (DP 36). Les gels d'inuline ont été préparés par dissolution de l'inuline selon les concentrations indiquées dans l'eau à 85°C et les gels sont formésau coursde	20

	refroidissement pendant une nuit (4°C)	
Figure I.11	Simulation sélective des bifidus après la prise d'inuline étude in vivo sur des volontaires humains	23
Figure I.12	Processus de production industrielle de l'inuline et desoligofructoses	31
Figure I.13	Mécanisme réactionnel de l'estérification de l'inuline	35
Figure I.14	Mécanisme réactionnel de l'éthérification de l'inuline	37
Figure I.15	Mécanisme de synthèse des carbonates d'inuline	39
Figure I.16	Mécanisme réactionnel de couplage des Acides aminés avec l'inuline	40
Figure I.17	Réactions de formation des phosphates d'inuline	41
Figure I.18	Mécanisme réactionnel de l'oxydation d'inuline	43
Figure I.19	Mécanisme de synthèse de Catechine-inuline en utilisant le système rédox Acide ascorbique/H_2O_2	47
Figure II. 1	Production des artichauts en Algérie durant les années 1990 et 2013	51
Figure II. 2	Schéma représentant (**a**) fleur d'artichaut variété Blanc d'Oran, (**b**) les akènes d'artichaut coupés et séchés, (**c**) les akènes d'artichauts broyés et tamisés.	52
Figure II. 3	Racines de chicorée endive	52
Figure II. 4	Tubercules de topinambour utilisés dans cette étude**(a)** tubercules intactes, **(b)** tubercules après le séchage, broyage et tamisage	53
Figure II. 5	Truffes de désert utilisées **(a)** truffe intacte, **(b)** truffe épluchée, **(c)** truffe séchée, broyée et tamisée	54
Figure II. 6	Structure chimique de l'unité de base de la gomme xanthane	55
Figure II. 7	Dispositif d'extraction de l'inuline par EMIH	58
Figure II. 8	Protocole d'extraction de l'inuline	61
Figure II. 9	Montage de la pastilleuse et les disques de différents hydrogels formés	72
Figure III. 1	La distribution des polysaccharides selon le nombre des articles publiés	74
Figure III. 2	Etude statistique pour chaque polymère	75

Figure III. 3	Répartition des applications de l'inuline	76
Figure III. 4	Position des akènes dans la fleur d'artichaut	77
Figure III. 5	Etude préliminaire à 55°C pour le choix du domaine d'extraction de **(a)** rapport pondéral (X_3), **(b)** temps d'extraction (X_2)	77
Figure III. 6	Effets des différents facteurs et interactions sur les réponses	80
Figure III. 7	Courbes de corrélation linéaire (a, c, e) entre les valeurs prédites et celles expérimentales et les graphes de valeurs résiduelles (b, d, f) des réponses	81
Figure III. 8	Effet du type de chauffage sur le rendement d'extraction d'inuline	83
Figure III. 9	Influence de temps et température sur le rendement (a) Par chauffage conventionnel, (b) Par induction électromagnétique	84
Figure III. 10	Courbes en surface de réponse indiquant l'effet de : (a) X_1 et X_2 sur le rendement Y_1, (b) X_1 et X_3 sur le rendement Y_1, (c) X_1 et X_2 sur la viscosité Y_2, (d) X_1 et X_3 sur la viscosité Y_2, (e) X_1et X_2 sur la solubilité Y_3, (f) X_2 et X_3 sur la solubilité Y_3	86
Figure III. 11	Rendement en inuline de haute molécularité extraite à partir des différentes sources IN_C : inuline de chicorée, IN_A : inuline d'artichaut, IN_T : inuline de topinambour, IN_{Tr} : inuline des truffes de désert.	88
Figure III. 12	Teneur en inuline de haute molécularité (% par rapport au poids sec) dans différentes variétés d'artichauts	89
Figure III. 13	Spectres infrarouge enregistrés pour les inulines d'artichaut (IN_A), de chicorée (IN_C), de topinambour (IN_T), des truffes de désert (IN_{Tr}), native (IN_{Na}), et de haute molécularité (IN_{HP}).	90
Figure III. 14	Représentation des pics d'absorption sur le spectre infrarouge de l'inuline de haut degré de polymérisation.	91
Figure III. 15	Microphotographies SEM des akènes d'artichaut: (a) avant extraction, (b) après extraction avec CVH, (c) après extraction avec EMIH	92
Figure III. 16	Microphotographies SEM des inulines, (a) IN_{Na}, (b) IN_{HP}, (c) IN_A, (d) IN_{TR}, (e) IN_T,(f) IN_C	92
Figure III. 17	Les diffractogrammes de rayons X en 1D des inulines extraites	93
Figure III. 18	Les diffractogrammes de rayons X en 2D des inulines extraites	94
Figure III. 19	Courbe d'étalonnage de la méthode d'Anthrone	95

Figure III. 20	Résultats expérimentaux de dosage des sucres totaux après hydrolyse des inulines extraites par EMIH	96
Figure III. 21	Réaction de Seliwanoff	96
Figure III. 22	Courbe d'étalonnage de fructose déterminée par réaction de résorcinol	97
Figure III. 23	Résultats expérimentaux de dosage de fructose contenu dans les inulines extraites par EMIH	97
Figure III. 24	Chromatographie sur couche mince de l'inuline (a): avant l'hydrolyse (b): après hydrolyse, (1): acide galacturonique, (2): saccharose, (3): fructose, (4): glucose, (5): inuline d'artichaut, (6): inuline native	98
Figure III. 25	Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration pour les inulines IN_{Na}, IN_A, IN_T et IN_C	99
Figure III. 26	Evolution du rendement d'extraction d'inuline au cours du temps	100
Figure III. 27	Spectre FTIR de Xanthane	102
Figure III. 28	Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration de xanthane	103
Figure III. 29	Interaction entre l'acide ascorbique et le peroxyde d'hydrogène	103
Figure III. 30	Insertion du xanthane sur la molécule d'inuline	104
Figure III. 31	Variation du degré d'estérification en fonction du rapport molaire xanthane/inuline	105
Figure III. 32	Variation du degré d'estérification en fonction du temps de réaction	106
Figure III. 33	Spectres FTIR de l'inuline commerciale (IN_{HPX}) et le dérivé IN_{HPX}-X	107
Figure III. 34	Spectres FTIR de l'inuline commerciale (IN_{HPX}) et les dérivés Inuline-xanthane	108
Figure III. 35	Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH	109
Figure III. 36	Pourcentage d'inhibition des dérivés obtenus	109
Figure III. 37	Viscosité apparente du xanthane	110
Figure III. 38	Viscosité apparente des dérivés obtenus IN_T-X (DE 0.26), IN_C-X (DE 0.33), IN_A-X (DE 0.36), IN_{HPX}-X (0.59)	111
Figure III. 39	Evolution des taux de gonflement des gels à 37°C : (**a**) dans l'eau	112

distillée, (**b**) dans la solution PSB 7.5

Figure III. 40 Taux maximal de gonflement des hydrogels à base de xanthane et IN_{HPX}-X dans l'eau distillée et la solution PBS 7.4 113

Figure III. 41 Evolution des taux d'érosion des gels à 37°C 114

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. 1	Différences principales entre les plantes dont le premier produit de la photosynthèse contient 3 carbones et celles dont le premier intermédiaire de la photosynthèse est constitué de 4 carbones	5
Tableau I. 2	Contenu en inuline (% par rapport au poids frai) de quelques plantes utilisées dans l'alimentation humaine	10
Tableau I. 3	Inulines disponibles sur le marché mondial	14
Tableau I. 4	Résumé de quelques applications des dérivés d'inuline	48
Tableau II. 1	Produits chimiques, réactifs et solvants	56
Tableau II. 2	Résumé des conditions d'extraction d'inuline	58
Tableau II. 3	Variables indépendantes et leurs niveaux	63
Tableau II. 4	Matrice d'expérience du modèle D- optimal	65
Tableau III. 1	Le taux d'humidité des matières végétales et les truffes de désert	76
Tableau III. 2	Résultats d'extraction par plan D-optimal	79
Tableau III. 3	Résultats d'analyse de variance (ANOVA) des réponses	82
Tableau III. 4	Validation des conditions optimales d'extraction	87
Tableau III. 5	Résultats des mesures viscosimétriques	99
Tableau III. 6	DE des dérivés obtenus	108

SYMBOLES ET ABREVIATIONS

ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
AP	Phosphatase alcaline
CCM	Chromatographie sur couche mince
CG	Chromatographie gazeuse
CG-MS	Couplage Chromatographie gazeuse- Spectroscopie de masse
CVH	Chauffage conventionnel (ConventionalHeating)
DDS	Système d'administration des médicaments
DNAse	DNAse humain recombinante
DRX	Diffraction des rayons X
EMIH	Chauffage par induction électromagnétique (Electromagnetic Induction Heating)
FAO	Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture
FEH	Fructaneexohydrolase (EC 3.2.1.153)
1-FFT	Fructane :fructane 1-fructosyltransferase (EC 2.4.1.100)
FOS	Fructo-oligosaccharide
FTIR	Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier
GR	Réponse glycémique
HA	Hémagglutinine
HPAEC-PAD	Chromatographie échangeuse d'anions à haute performance, couplée à un système de détection ampérométrique pulsé
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
IN_A	Inuline extraite à partir des artichauts
IN_C	Inuline extraite à partir des racines de chicorée
IN_{HP}	Inuline commerciale de haut degré de polymérisation
IN_{HPX}	Inuline commerciale de haut degré de polymérisation qui résiste aux traitements thermiques
IN_{Na}	Inuline native
IN_T	Inuline extraite à partir de topinambour

IN_{TR}	Inuline extraite à partir des truffes de désert
MAE	Extraction assistée par micro-ondes
MALDI-TOF	Désorption-ionisation laser assistée par matrice- spectrométrie de masse TOF
MPI	Inuline microparticulaire
PAHBAH	Acide parahydroxybeozoïque hydrazide
PstI	Enzyme de restriction
PvdQ	Acyl-homosérine-Acylase
RI	Indie de réfraction
RMN	Résonance magnétique nucléaire
RSM	Méthodologie de surface de réponse
SA	Séchage à l'air libre
SCFAs	Acides gras de courte chaîne
SL	Séchage par lyophilisation
SLP	Lyophilisation par pulvérisation
SP	Séchage par pulvérisation
1-SST	Saccharose :saccharose 1-fructosyltransferase (EC 2.4.1.99)
UAE	Extraction assistée parultrasons
UMAE	Extractionsimultanéedes ultrasons/micro-ondes

SYMBOLES

A_{acide}	Surface de la bande acide
A_{ester}	Surface de la bande ester
A_0	Absorbance du blanc
A_1	Absorbance de l'échantillon
C	Concentration massique du polymère ($g.mL^{-1}$)
C_f	Concentration de fructose (mg/ml)
C_g	Concentration de glucose (mg/ml)
DE	Degré d'estérification
DO	Densité optique

DP Degré de polymérisation

H Taux d'humidité (%)

I Taux d'inhibition des radicaux libres (%)

$\mathbf{m_e}$ Masse des gels érodés à l'instant t (g)

$\mathbf{m_f}$ Masse de fructose (mg)

$\mathbf{m_g}$ Masse de glucose (mg)

$\mathbf{m_h}$ Masse du gel à l'instant t (g)

$\mathbf{m_i}$ Masse du gel à l'état initial (g)

$\mathbf{M_w}$ Masse moléculaire moyenne d'un polymère ($g.mol^{-1}$)

TE Taux d'érosion (%)

TG Taux de gonflement (%)

$\mathbf{V_{ST}}$ Volume de la solution de travail (ml)

$[\boldsymbol{\eta}]$ Viscosité intrinsèque ($ml.g^{-1}$)

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Chaque année, de grandes quantités de biomasse sont produites par photosynthèse etseulement de faibles proportions de ces ressourcesrenouvelables sont utilisées par l'homme, le plus souvent comme nourriture mais aussi pour la production d'énergie, le papier, la construction et l'ameublement, le textile et la synthèse de produits chimiques.

La valorisation de cette biomasse est actuellement une nécessité environnementale et une opportunité économique, elle représente l'une des voies d'avenir pour participer à la maîtrise des consommations de ressources non renouvelables et lutter contre le changement climatique. Cette valorisation nécessite des approches complètement nouvelles et d'énormes efforts pour développer de nouveaux systèmes de biomasse dans lesquels la production, la conversion et l'utilisation de produits biologiques sont réalisées efficacement en harmonie avec la nature, ce qui constitue et met en œuvre le concept de la bioraffinerie.

Les polysaccharides constituent une part importante de la biomasse. Ils déploient une extraordinaire variété de structures, résultant de la pluralité des modes d'assemblage des sucres simples. Cette formidable diversité structurale est associée à un spectre de fonctions biologiques tout aussi large, ces polysaccharides pouvant jouer un rôle de structure, constituer des réserves énergétiques, ou intervenir dans des phénomènes d'adhésion ou de signalisation cellulaire. De même, grâce à la diversité de leurs structures moléculaires, ces polysaccharides possèdent souvent des propriétés physico-chimiques distinctes pouvant donner lieu à des applications industrielles variées, répondant aux besoins des consommateurs et de l'industrie et présentant généralement l'avantage d'être biodégradables et biocompatibles

En plus de leur diversité et stabilité, les polysaccharides possèdent des groupements réactifs (hydroxyles) qui peuvent être modifiés par différentes voies chimiques. Ils permettent ainsi la création de nouveaux dérivés doués des propriétés physico-chimiques spécifiques pour une application ciblée. La modification chimique constitue un domaine de recherche d'actualité et conduit au développement de nouveaux biomatériaux avec des applications très prometteuses.

C'est dans ce contexte que se situe l'objectif principal de notre étude ; il repose principalement sur la fonctionnalisation chimique d'un polysaccharide (inuline) issu de sources végétaleset destiné à une utilisation ciblée, formulation d'un hydrogel antioxydant

pour la libération contrôlée de médicaments.Cet objectifexigeun polysaccharide possédant des caractéristiques bien définies, spécialement une masse moléculaire élevée. Cette dernièrecontrainte nous a pousséà consacrerune partie importante au choix du polysaccharide, des plantes sourceset de la techniqued'extraction. Le choixdel'inuline est le fruitd'une étude bibliographique réalisée sur l'ensemble des polysaccharides utilisés dans les domaines alimentaire et pharmaceutique durant les années 2000 à 2013.

Pour atteindre notre objectif d'obtenir un biopolymère de haute molécularité, nous avons procédé à l'extraction de l'inuline par deux modes de chauffage: le chauffage conventionnel et le chauffage par induction électromagnétique en utilisant une méthodologie à base de plan d'expériences afin de déterminer les conditions opératoires optimales et le meilleur compromis entre un bon rendement et une meilleure qualité en extraits. Trois sources végétales ont été sélectionnées pour l'extraction de ce polysaccharide : l'artichaut, le topinambour, la chicorée endive et une espèce de champignon: les truffes de désert.

Ce manuscrit s'articule autour de trois parties :

Le premier chapitre rassemble les données disponibles dans la littérature concernant l'inuline : définition, structure, biosynthèse et propriétés. Nous décrivons ensuite les différentes applications de l'inuline notamment les applications agroalimentaires et pharmaceutiques. Enfin nous dressons le bilan des modifications chimiques réalisées sur l'inuline.

Le deuxième chapitre expose la description du matériel, protocoles et méthodes utilisées pour réaliser les différentes extractions, synthèses et caractérisations par différentes techniques.

Le troisième chapitre rassemble tous les résultats obtenus lors de ce travail. Les résultats sont regroupés en cinq parties :

- Une évaluation de l'étude bibliographique réalisée sur les polymères utilisés dans le domaine pharmaceutique est exposée.
- Une optimisation des conditions opératoires d'extraction de l'inuline en utilisant la méthodologie des plans d'expérience.
- Une caractérisation des inulines extraites à partir des différentes sources et sous les paramètres opératoires optimaux.

- Les résultats de la modification et la caractérisation des esters inuline-xanthane obtenus sont présentés.
- Les résultats de la mise au point d'un hydrogel antioxydant ainsi que l'étude de la cinétique de gonflement et d'érosion de cet hydrogel sont exposés.

Nous terminons notre travail par une conclusion générale et les perspectives pour la continuité de ce projet de recherche.

CHAPITRE I

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I. 1. Introduction

Les fructanesou polyfructosylsucroses, des polymères de fructose synthétisés à partir de saccharose, présentent une grande diversité de structure selon l'espèce dans laquelle ils sont accumulés. Ces carbohydrates de réserve se trouvent dans environ 15% des espèces de plantes à fleurs,etils sont présents séparément ou sous forme de mélanges hétérogènes ayant différents degrés de polymérisation (DP)**[1]**. Selon la nature des liaisons glucidique, les fructanes sont classés en quatre groupes : les fructanes de type inuline, les néokestoses, les lévanes et les graménanes**[2]**.

L'inuline a été découvertepar lescientifique allemandValentine Rose, dans les années 1800, en tant que source de glucides à partir des racines de*l'Inulahelenium*, et après nommé Inuline par Thomsonen 1817**[3]**.Lephysiologistedes plantesJuliusSachsa détecté, en 1864 à l'aide d'un microscope, lessphérocristauxde l'inulinedans les tuberculesde *D.pinnata*, *H.tuberosus*et*I.helenium*après précipitationavec l'éthanol.

L'inuline et les oligofructoses sont légalement classés comme aliments ou ingrédients alimentaires (non comme additifs) dans tous les pays de l'Union Européen, l'Australie, le Canada et le Japon. Dans tous ces pays, ils peuvent être utilisés sans limitation spécifique comme ingrédients dans les aliments et les boissons, et peuvent être étiquetés comme des fibres alimentaires**[4]**. Les propriétés nutritionnelles et technologiques de l'inuline en font un ingrédient très attrayant non seulement dans l'industrie agro-alimentaire mais aussi dans l'industrie pharmaceutique, cosmétique et de la détergence.

Il convient donc dans un premier lieu de dresser un bilan des données disponibles dans la littérature sur l'inuline en dévoilant les points suivants : sa localisation dans la cellule végétale, sa structure, sa biosynthèse, les méthodes permettant son extraction et enfin sa valorisation dans les différents domaines industriels.

En deuxième lieu, ce chapitre s'intéresse à la modification chimique de l'inuline tout en envisageant la valorisation des différents dérivés obtenus.

I. 2. Inuline

I.2.1. Localisation de l'inuline dans la cellule végétale

Les fructanes sont reconnues comme l'une des principales sources d'énergie stockée dans 15% des plantes supérieures**[5]**, ainsi que dans une large gamme de bactéries et de champignons**[6]**. Les fructanes végétaux (inuline, lévane, néokestose et graminane) sont synthétisés dans la vacuole centrale, mais ils peuvent également être présents dans l'apoplaste, le phloème et les tissus du xylème**[7]**.

La photosynthèse est le processus par lequel les plantes convertissent l'énergie lumineuse en sucres simples. Le dioxyde de carbone provenant de l'air et l'eau sont utilisés pour la synthèse des acides organiques, qui sont ensuite transformés en sucre par l'intermédiaire d'une enzyme appellée "Rubisco" (Ribulose-1,5 bisphosphate carboxylase). Cette enzyme est moins sensible aux changements de température par rapport aux enzymes repiratoires. Il existe diverses formes de métabolisme dans les plantes, parmi lesquelles on cite le métabolisme C3 et C4. Dans les plantes de type C3, le premier produit de la photosynthèse est un acide organique à trois carbones, tandis que dans le 2ème cas, le premier produit est un acide organique à 4 carbone (Tableau I. 1)**[8]**.

Tableau I. 1 : Différences principales entre les plantes dont le premier produit de la photosynthèse contient 3 carbones et celles dont le premier intermédiaire de la photosynthèse est constitué de 4 carbones**[8]**

	Plantes en C3	Plantes en C4
Température optimale de croissance :	10-25°C	15-40°C
Premier produit de la photosynthèse	3 carbones	4 carbones
Forme de stockage majoritaire des glucides	fructanes	amidon
Lieu de production et de stockage des glucides	Vacuoles	Chloroplaste de la feuille
Efficacité de la photosynthèse	Efficace même à faible luminosité	Augmente avec l'augmentation de l'intensité
Utilisation de l'eau	Moins efficace	Très efficace

L'accumulation des fructopolymers commence à la suite d'une forte activitéde photosynthèse dans les chloroplastes, où de grandes quantités de carbone sont générées et ensuite exportées dans le cytoplasme, ce qui entraîne une augmentation dans la synthèse de saccharose. Ce dernier est ensuite pompé dans la vacuole pour la production et le stockage de l'inuline par l'action defructosyltransferases (Figure I. 1). Une faible proportion de saccharose non convertie est hydrolysée en glucose et fructose par invertase**[9]**.

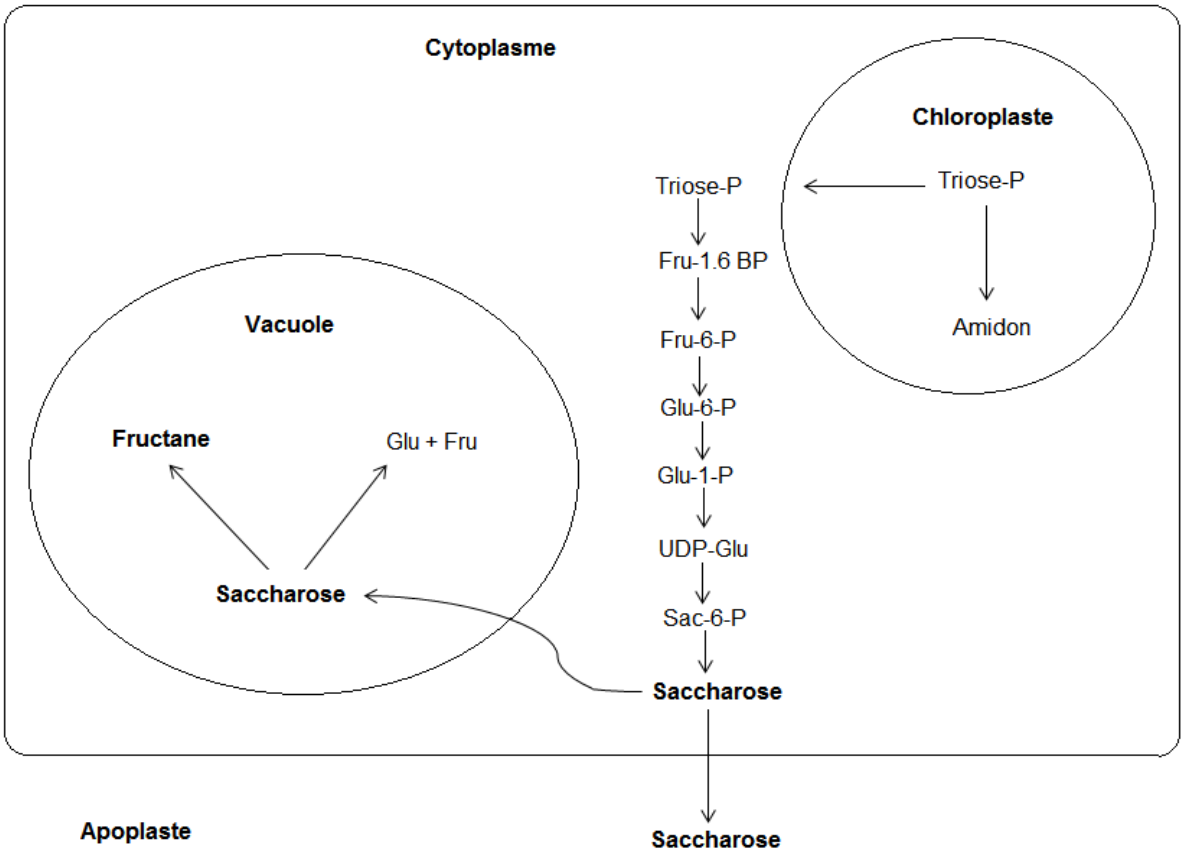


Figure I. 1: Aperçu schématique de l'accumulation des Fructanes dans les vacuoles **[9]**

L'accumulation de l'inuline dans les plantes vasculaires est renforcée par des conditions augmentant la photosynthèse telle que des longues photopériodes, et une diminution dans la demande de carbone (par exemple des basses températures, une faible disponibilité de l'azote et la sécheresse)**[10]**.

En plus de son rôle de glucide de réserve, d'autres fonctions ont été proposées pour les fructanescomme des fonctions d'osmorégulation et de cryoprotection**[11]**.

La salinité, la sécheresse et les basses températures représentent les principaux facteurs limitatifs de stress abiotique pour la productivité agricole. L'exposition à ces contraintes provoque diverses perturbations au niveau de la structure et la composition de la membrane cellulaire**[12]**.La flexibilité des fructanes inhibe la fusion des membranes biologiques par formation des liaisons hydrogènes directe avec la tête polaire des phospholipides membranaire, en remplaçant essentiellement les molécules d'eau lors de la déshydratation (Figure I. 2).

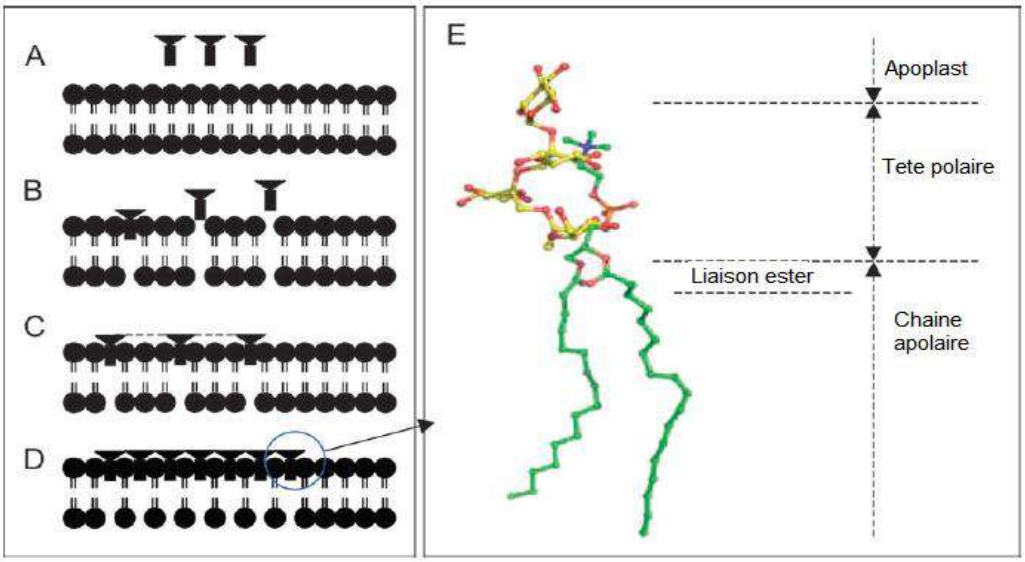


Figure I. 2: Interaction entre les fructanes et la membrane lipidique : A) les fructanes se déplacent vers la membrane plasmique, B) et C) insertion de fructanes dans la double couche lipidique, D) protection de la membrane contre la dégradation, F) représentation de la coordination entre 1,1 nystose et une molécule lipidique en utilisant la dynamique moléculaire**[13,7]**

I.2.2. Structure de l'inuline

L'inuline (Figure I. 3) est constituée chimiquement d'un mélange d'oligo et/ou de polysaccharides composés d'unités de fructose liées entre elles par des liaisons β (2→1)-D-fructosyl-fructose (type Fn). Les chaines de fructose de différentes tailles se terminent, normalement et pas nécessairement, par une seule unité de glucose (liaison α(2→1)-D-glucopyranosyl, type GFn)**[14-16]**. Les molécules de fructose dans le type GFn sont toujours présntées sous la forme furanose, tandis que dans la forme Fn, la molécule de fructose terminale est réductrice et elle est présentée sous la forme pyranose.

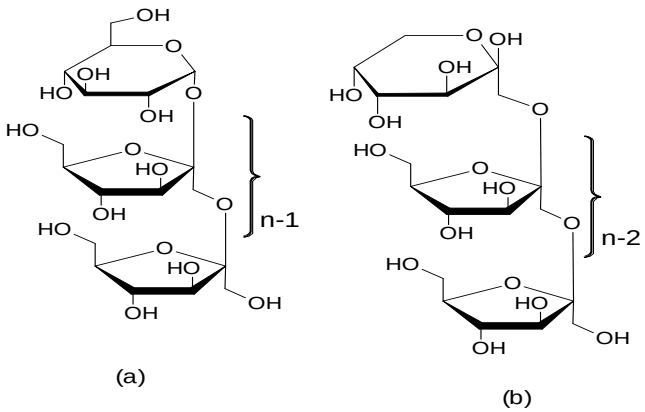


Figure I. 3 : Structure chimique de l'inuline (a) GF_n, (b) F_n. **n** est le degré de polymérisation ou le nombre d'unités β-D fructofuranose**[17]**

La configuration β du carbone anomérique C_2, permet aux fructanes de type inuline d'être résistant à l'hydrolyse par la salive humaine et les enzymes digestives intestinales qui ont une spécificité pour les liaisons α- glucosidiques. En conséquence, ces composés sont non digestibles et sont fermentés dans le côlon**[18,19]**. Le nombre d'unités de fructose (degré de polymérisation DP) diffère de 2 à plus de 70**[20]**.

Les fructo-oligosaccharides (FOS) ou Oligofructoseest un sous-groupe de l'inuline, constitué par des polymères ayant un DP≤10**[21,22]**. La molécule d'inuline la plus courte est un trisaccharide 1-kestose (1-kestotriose; GF_2) suivie par le nystose (1,1-kestotetraose; GF_3), et le 1F-β-fructofuranosylnystose (1,1,1-kestopentaose; GF_4) (Figure I. 4)**[23]**.

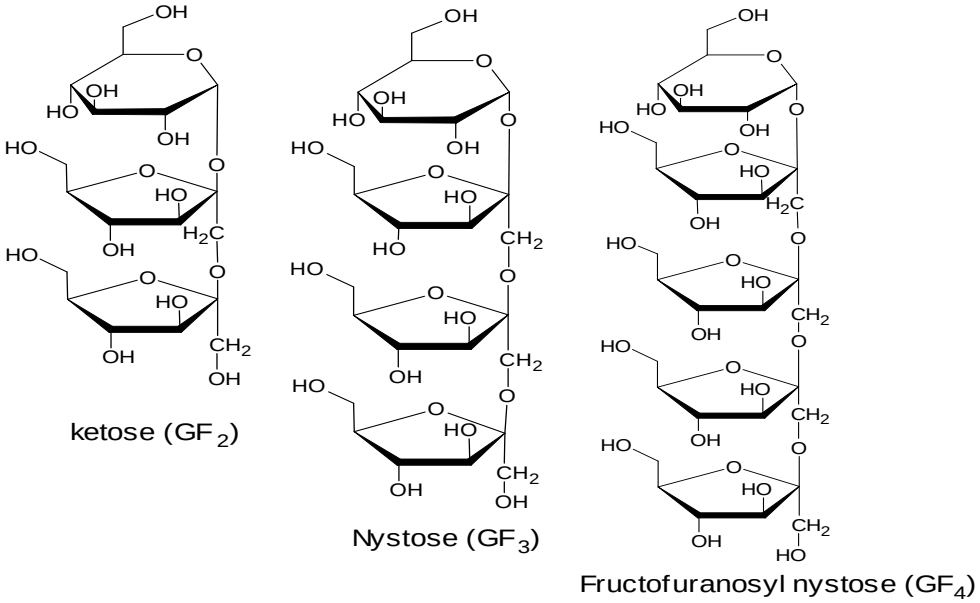


Figure I. 4 : Structure chimique des oligo-fructoses : kestose, nystose et fructofuranosyl-nystose**[24]**

L'inuline existe, au moins partiellement, dans un état amorphe et par conséquent la transition vitreuse se produit pendant le traitement de déshydratation/réhydratation et/ou congélation/décongélation.Etant donné que diverses propriétés physiques (par exemple la viscoélasticité) sont modifiées de manière spectaculaire par la transition vitreuse**[25]**.Kawai *et al.***[26]**ont trouvé que l'inuline de faible poids moléculaire (Low-MW) et l'inuline native possèdent une structure amorphe tandis que l'inuline de haut poids moléculaire (High-MW) est un polymère semi-cristallin.

André*et al.***[27,28]** ont rapportédeuxallomorphes cristallinsde l'inuline, une forme hydratéeindexéesur unecellule unitaireorthorhombique et une forme semi-hydratée pseudo-hexagonale (seulement la moitié d'une moléculed'eau par unitéfructosyl). Il a également

étéconstaté quela différence entre la forme hydratée etsemi-hydratée ne correspond pas au changement delaconformationdel'inuline,maisplutôtà une variationde la teneur eneau**[29,30]**.Chaque cellule unitaire est formée de deux chaines hélicoïdales antiparallèles, et six résidus de fructose par chaine**[31]**.

Cooper *et al.***[32]**ontmodélisé in silico une chaîne d'inuline constituée de 8 unités de fructose (GF8), cette chaîne (degré de polymérisation, DP = 9) sert comme modèle pour les autres chaines d'inuline de haut degré de polymérisation (DP> 60) lors de l'assemblage possible dans les structures lamellaires. Ce modèle traite des chaînes de longueurs identiques, mais vaut également pour les chaînes non identiques.

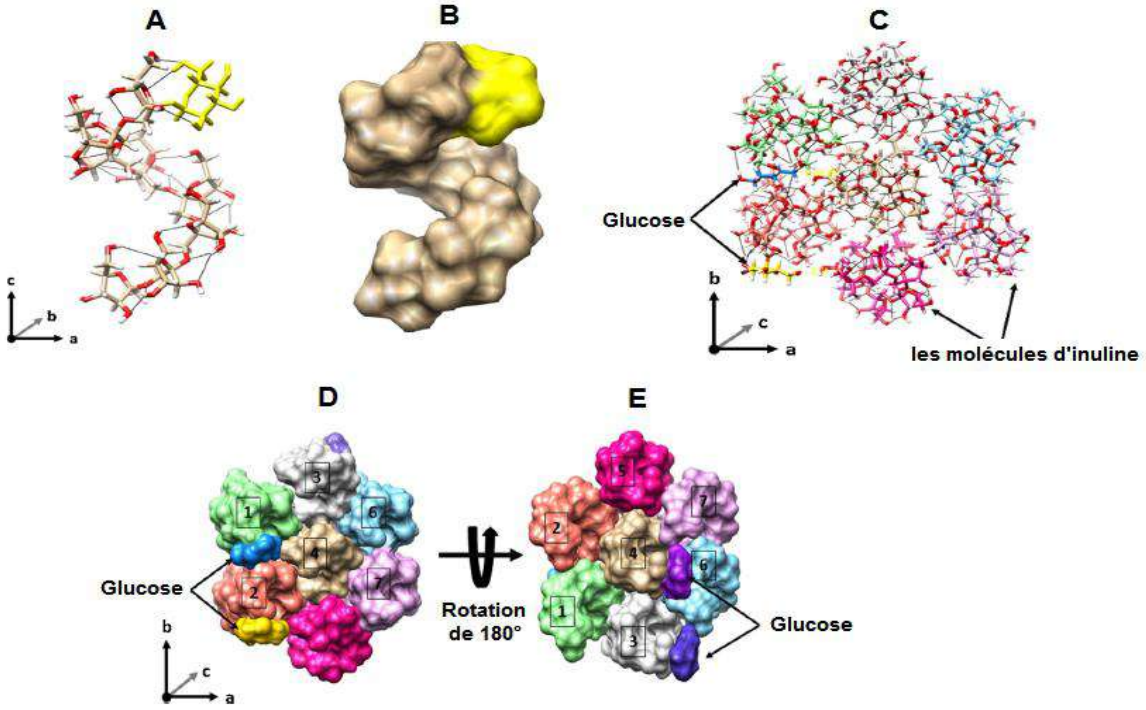


Figure I.5 : Relation entre les molécules de l'inuline par simulation in silico. A) diagramme en bâton d'une molécule d'inuline (GF8) : O (rouge), C (gris), H (blanc), glucose (jaune). B) diagramme en espace rempli d'une molécule d'inuline : nuage des électrons de fructose (gris), et celui de glucose (jaune). C) diagramme en bâton d'une lamelle de 7 molécules d'inuline. D) et F) diagrammes en espace rempli d'une lamelle de 7 molécules d'inuline**[32]**

Les diagrammes en bâton (Stick diagram) et en espace rempli (spacefilleddiagram) montrent la forme hélicoïdale trouvée par André *et al.***[28]**comme le montre laFigure I.5-A et la Figure I.5-B.Par ailleurs, d'après ces auteurs, sept molécules parallèles d'inuline dans une feuille d'emballage hexagonale simulent une lamelle d'inuline, avec alternance des molécules 3, 4 et 5 alignées antiparallèle(Figure I.5-C). Lors de simulation *in silico*, le champ de force

Amber ne convient pas pour la modélisation des liaisonsHydrogène intermoléculaires, pour cela, la proximité stérique de glucoses et fructoses des chaînes antiparallèles terminales est démontrée pour les surfaces lamellaires supérieures et inférieures (Figure I.5-D et E).

I.2.3. Sources de l'inuline

L'inuline est une fibre alimentaire synthétisée dans plus de 36000 plantes. Elleest présentedansun certain nombre de familles demono- etdicotylédonestelles queles famillesdes *Liliaceae, Amaryllidaceae, Gramineae,*et*Compositae.*Dans les *Liliacées, Amaryllidacées*et les *Composées,* les inulinessont généralement stockées dansdes organes tels queles bulbes, les tubercules etles racines tubéreuses**[33,34]**. Dans*les Asteraceae (Compositae),* les fructanessertclairement comme uneréserve alimentaireà longterme, carilssont stockésdans les organesd'hivernagesouterrainstels quedes racines pivotantesen*Cichoriumintybus*(chicorée), *Taraxacumofficinalis*(pissenlit), *etScorzoneraspp.*,et les tuberculesdans*Helianthustuberosus*(topinambour) et *Dahliaspp.***[10,35]**.Le Tableau I. 2regroupe le contenu en inuline de quelques plantes couramment utilisés dans l'alimentation humaine.

Tableau I. 2 : Contenu en inuline (% par rapport au poids frai) de quelques plantes utilisées dans l'alimentation humaine**[36,37]**

Source	Partie comestible	Poids sec (%)	Contenu en inuline (%)
Oignon	Bulbe	6-12	2-6
Topinambour	Tubercule	19-25	14-19
Chicorée	Racine	20-25	15-20
poireau	Bulbe	15-20*	3-10
L'ail	Bulbe	40-45*	9-16
Artichaut	Feuilles-cœur	14-16	3-10
Banane	Fruit	24-26	0.3-0.7
Orge	Céréale	/	0.5-1.5*
Pissenlit	Feuilles	50-55*	12-15
Bardane	Racine	21-25	3.5-4.0
Yacon	Racine	13-31	3-19
Salsifis	Racine	20-22	4-11

* Valeur estimée

Compte tenu de leur haute teneur en inuline (> 10%), la Dahlia, le topinambour (*Helianthustuberosus*), et la chicorée (*CichoriumintybusL.*) sont les meilleures sources pour la production industrielle d'inuline**[38]**.

I.2.3.1. Chicorée

La chicorée est une espèce allogame, bisannuelle et multipliée par semences. A l'état sauvage, la chicorée est une espèce endémique et ubiquiste qu'on peut trouver dans toute l'Europe et en Afrique du Nord. Elle est présente sous forme subspontanée sur le continent Américain, en Australié, en Afrique du Sud et en Asie jusqu'aux abords de la chine**[39]**. Au cours de la première saison, les plantes restent dans la phase végétative et ne forment que des feuilles, des racines pivotantes, et les racines fibreuses.

La chicorée industrielle (*Cichoriumintybus* L. var. *sativum* (Bisch.) Janch.)est un cultigroupe de l'espèce *CichoriumintybusL.*.Les premières traces de consommation de la chicorée remontent à l'Egypte ancienne où elle était utilisée et appréciée comme plante digestive et dépurative. Cette plante a été utilisée dans la médecine populaire de la Grèce antique et en Rome pour ses propriétés cicatrisantes, pour aider à la digestion, et pour son effet légèrement laxatif**[40,39]**.Plus récemment,elle a été utilisée comme légume-feuilles**[41]**, fourrage bioactif**[42]**et substituant de café traditionnel**[43,44]**.

La racine de chicorée contient de 16 à 19% d'inuline (dans certaines conditions climatiques favorables, les teneurs peuvent atteindre 20 à 22%)**[39,43]**.L'inuline extraite peut être nativeavec un degré de polymérisation (DP) compris entre 10-12 ou de haut degré de polymérisation (longue chaine, DP>25)**[45]**.

La production mondiale de chicorée industrielle s'élève à plus de 1 million de tonnes de racines**[46]**. Selon l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), La Belgique, la France, les Pays-Bas, la Pologne et l'Afrique de Sud sont les principaux producteurs**[47],** avec une production maximale en Belgique atteignant 269000 tonnes en 2013 (54% de production mondiale). Cette production a été triplée par rapport à celle de 1990 (Figure I.6).

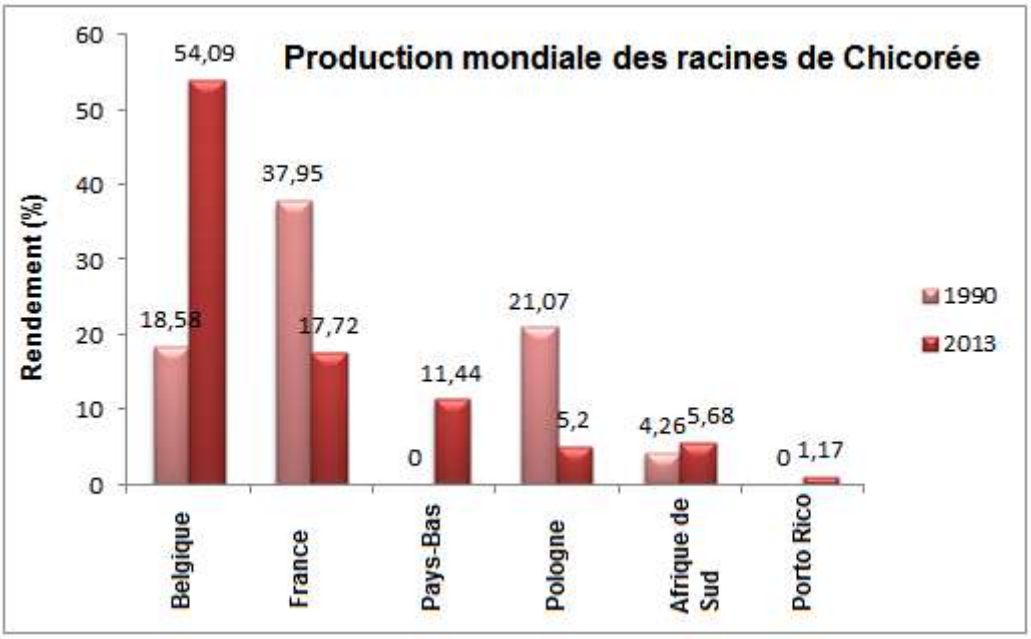


Figure I.6 : Production mondiale estimée des racines de chicorée (Selon l'organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO)**[47]**

I.2.3.2. Topinambour

Le Topinambour (*Helianthus tuberosus* L.) est une plante vivace de la zone tempérée appartenant la famille des *Astéracées* et originaire de l'Amérique du Nord**[48-50]**. Cette plante présente plusieurs avantages en tant que matériau de biomasse brute, telles que la croissance rapide, la haute production, les exigences minimales pour les pesticides, les engrais ou l'eau**[51,52]**. Sa tolérance à de nombreux stress abiotiques (y compris la salinité et l'alcalinité) le font une espèce de plante idéale pour l'amélioration des sols salins-alcalins**[53]**.

Actuellement, le topinambour est cultivé principalement en Amérique du Nord, l'Europe du Nord, la Chine, la Corée, l'Australie et la Nouvelle-Zélande, et ses tubercules sont déjà devenus populaires dans la cuisine européenne**[54]**.

La teneur en inuline des tubercules varie de 7 à 30% du poids frais (environ 50% du poids sec), une teneur en inuline allant de 8 à 21% du poids frais est considérée comme typique. Le contenu et le DP de l'inuline dépendent du cultivar, les conditions de culture, la période de récolte, et la maturité des tubercules à la récolte**[48]**.

Saengthongpinit et Sajjaanantakul**[55]**ont déterminé la distribution des chaines de l'inuline dans les premiers tubercules de topinambour (16-20 semaines après la plantation),selon leur degré de polymérisation(DP). Quatre classes ont été signalées, la première classe est celle des fructooligosaccharides (FOS), elle regroupe les chaines de DP variant entre 3-10 et représente 47% de la masse de l'inuline extraite. La 2ème classe est celle de DP= 11-20 et comprend27-

30%, la 3ème classe regroupe les chaines de DP = 21-30 et elle représente 10% et celle de DP> 30 comprenant 4-5% de la teneur totale en inuline.

I.2.3.3. Dahlia (Dahlia pinnata)

II s'agit d'une plante d'origine mexicaine, introduite en France vers les années 1800, et utilisée comme plante ornementale. Elle possède des tubercules groupés, de formes irrégulières et contenant une quantité importante d'inuline (75% de la quantité de la matière sèche ou 11.5% de la matière humide). La richesse particulière en polymère de haut poids moléculaireinflue sur le rapport Glucose/Fructose qui varie de 0.035 à 0.2. Cette plante possède de nombreux inconvénients : elle est très sensible aux mauvaises conditions climatiques, les tubercules sont difficiles à récolter et leur forme irrégulière gène leur stockage et transport, la teneur en eau dans les tubercules est relativement élevée (85%) et ne favorise pas le bon rendement en sucre. Cependant cette plante est intéressante pour la production d'inuline de bonne qualité chimique (hautement polymérisée, DP= 40)**[56,57]**.

Récemment Kosasih *et al.***[58]**ont trouvé que le rendement de l'inuline extraite à partir tubercules frais de *Dahlia L.spp*.se situe entre 6 et 9.5%.Ce résultat est amélioré jusqu'à 3 fois par rapport à l'étude réalisée par Zobaidah et Akhadiana(3.22%)**[59]**.Le Dahlia n'est pas cultivé uniquement pour ses tubercules, mais aussi pour ses fleurs qui varient en couleur, en forme et en taille selon le cultivar**[60]**.

Les inulines commercialement disponibles sont obtenues principalement de la chicorée, ils sont distribués avec plusieurs noms commerciaux tels que le Raftiline ou Fibruline. Le Tableau I. 3donne un aperçu sur les fabricantsdes inulines commerciales.

L'inuline est également synthétisée par un certain nombre de bactéries, comme les espèces de *Streptococcus* et de *Bacillus*, les champignons tels que les espèces de *PenicilliumeAspargillus***[61].** L'inuline produite par les microorganismes possède un poids moléculaire beaucoup plus élevé que celle d'origine végétale (DP= 10000 à plus de 100000) et elle est hautement branchée (>15%)**[1,37]**.

Tableau I. 3: Inulines disponibles sur le marché mondial

Fabricant	Nom commercial	Source	DP	Masse moléculaire (g/mol)	Référence
Orafti	Orafti® GR	Chicorée	2-60	/	**[62],[63]**
	Orafti ® HPX	Chicorée	>23	/	
	Raftiline ® HP	Chicorée	23	2499	
	Raftiline ®ST	Chicorée	11	1249	
	Raftilose ® P95	Chicorée	5	624	
Cosucra	Fibrulose 97	Chicorée	5.5	/	**[64], [65], [66]**
	Fibruline instant	Chicorée	9	/	
	FibrulineLC	Chicorée	22	/	
	Fibruline ® XL	Chicorée	20-23	/	
Sensus	Frutafit ® TEX	Chicorée	22	/	**[67], [68]**
	Frutfit ® CLR	Chicorée	/	/	
	Frutafit ® HD	Chicorée	10-12	/	
Sigma	Inulin	Chicorée	25	4450	**[69], [70]**
	Inulin	Topinambour	29	3400±150	
	Inulin	Dahlia	26-35	/	

I.2.4. Métabolisme de l'inuline

La biosynthèse des fructanes chez les plantes supérieures s'effectue différemment, selon qu'il s'agisse des Monocotylédones ou des Dicotylédones. Cette différence s'explique sur le plan structural par le fait que les types de liaisons chimiques composant les fructanes ne sont pas les mêmes; toutefois, du point de vue enzymologique, les mécanismes impliqués dans les réactions d'anabolisme et de catabolisme présentent certaines similitudes.

La biosynthèse commence lorsque la photosynthèse est supérieure à la demande et le saccharose atteint un niveau critique dans les organes de réserves (6-15%). Ce phénomène est catalysé par 3 enzymes différents : saccharose:saccharose 1-fructosyltransferase (EC 2.4.1.99)(1-SST), Fructane:fructane 1-fructosyltransferase (EC 2.4.1.100) (1-FFT) et fructaneexohydrolase (EC 3.2.1.153) (FEH)**[71-73]**.

La molécule d'inuline est formée d'une molécule de saccharose sur laquelle est greffée une chaine de résidus fructose. Suite à des réactions dites de transglycosylation, des molécules

« donneuses » de résidu fructose vont intervenir dans les mécanismes d'élongation des chaines d'inuline. Ce principe fondamental dans l'étude et la compréhension de la biosynthèse des fructanesa été proposé par Edelman et Jefford**[74]**en 1968. Leurs études ont porté sur la formation d'inuline dans les tubercules de topinambour. Ils ont alors démontré que le saccharose joue un rôle important en tant que premier « donneur » de fructose et que les glycosyltransférases impliquées dans les réactions ne font pas appel à des intermédiaires de type glyconucléotidiques (absence de précurseur de phosphorylation).

Le modèle de synthèse proposé parEdelman et Jeffordimplique 3 étapes successives, la première étape est la phase d'initiation du 1-kestose, cette réaction s'est effectuée au niveau du cytoplasme sous l'action de l'enzyme 1-SST selon l'équation (I.1)**[75]** :

$$GF + GF \xrightarrow{SST} GFF + G \qquad \text{(I.1)}$$

La 1-SST (enzyme vacuolaire) est responsable du transfert d'un résidu fructose d'une molécule de saccharose donneuse à un saccharose accepteur au niveau du C1 de son résidu fructose, formant une liaison β(2→1). La molécule résultante est le 1-kestose, le plus simple des fructanes du groupe des inulines**[73]**.

Edelman et jefford ont montré que la synthèse d'inuline a lieu dans la vacuole, le résidu de fructose terminal du 1-kestose serait transféré du cytoplasme vers une molécule de saccharose contenue dans la vacuole par l'intermédiaire de 1-FFT, qui serait localisée au niveau du tonoplaste (compartimentation des réactions de synthèse de fructanes). La dernière étape dans le modèle est l'élongation de la chaine d'inuline par transfert de résidus terminaux de fructose à partir de 1-kestose vers des chaines d'inuline pré-existante, formant ainsi une liaison β(2→1) par le biais de 1-FFT selon la réaction (I.2)**[76-78]**:

$$GF_n + GF_m \overset{1-FFT}{\Longleftrightarrow} GF_{(n+1)} + GF_{(m-1)} \quad (avec\ n \geq 1\ et\ m \geq 2) \qquad \text{(I.2)}$$

Il faut noter que la 1-FFT possède dans ce cas un double rôle puisqu'elle polymérise une chaine pour en dépolymériser une autre lors du même processus réactionnel (Figure I.7-A). Cette propriété devra être prise en compte lorsque l'on étudie les mécanismes de mobilisation des réserves hydrocarbonées chez les plantes qui accumulent les fructanes. Les transferts de fructose semblent toujours se faire sur la fonction hydroxyle située sur le C1 du cycle de la molécule fructose acceptrice**[79]**.

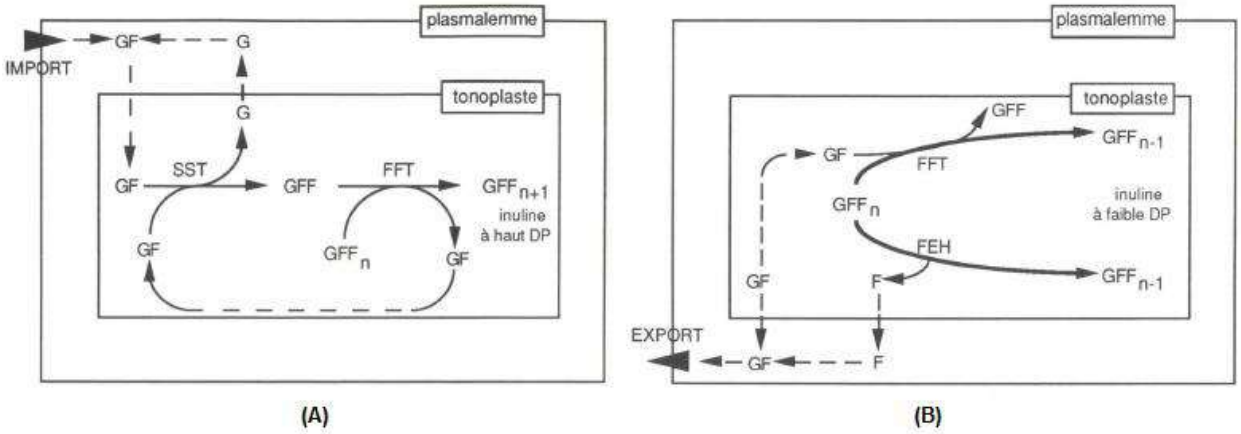


Figure I.7 : Compartimentation du métabolisme de l'inuline dans les tubercules de *H. tuberosus* L. en phase de développement (A), de repos et de germination (B). Modèle proposé par Frehner *etal.***[80]**

Comme pour les réactions de synthèse, les systèmes impliqués dans la dégradation des fructanes vont dépendre du type de liaisons mis en jeu et, en ce fait, la nature chimique des fructanes à dépolymériser. Selon le modèle proposé par Edelman et Jefford**[81]**, la dépolymérisation de l'inuline, hormis l'action de la FFT, est effectuée chez le topinambour par deux enzymes appeléesFructanes-exo-hydrolases A et B (FEH). Ces enzymes présentent la particularité d'hydrolyser de façon récurrente les résidus fructose en position terminale sur la molécule d'inuline, elles sont inactives sur le saccharose et elles peuvent aussi être plus ou moins inhibées par le saccharose, celle-ci pouvant à nouveau servir à former des nouvelles chaines comme indiqué dans la Figure I.7-B**[82]**.

La biosynthèse de l'inuline dans la plupart des bactéries et les champignons est effectuée à l'aide d'une seule enzyme, le fructosyltransférase (EC2.4.1.9). À l'exception des moisissures de genre *AspargillusFoetidus*, où l'enzyme 1-SST a été identifiée, indiquant que le mécanisme de biosynthèse d'inuline dans ce genre de champignons est identique à celui des plantes**[83]**.

I.2.5. Propriétés de l'inuline

I.2.5.1. Propriétés physico-chimiques

a) Degré de Polymérisation

Le degré de polymérisation (DP) est le nombre total des unités de monomères contenu dans une macromolécule. Lorsque le DP est inférieur à 10, on parle d'un oligofructose ou fructoligosaccharide (FOS), et lorsqu'il est supérieur à10, on parle d'un polysaccharide**[84]**.

L'inuline native possède un DP compris entre 3 et 60**[85]**. Le plus haut DPdes molécules d'inuline connues chez les plantes, est présent dans les artichauts avec une teneur maximale en inuline enregistrée avant la formation des fleurs (avant la fleuraison)**[10,80]**. Le DP et la structure de l'inuline dépendent de l'espèce de la plante, du cycle de vie, de la période de récolte, du temps de stockage après la récolte et de la procédure d'extraction**[86]**.

Grâce à la demande croissante de cette molécule dans les différents domaines, notamment l'industrie agro-alimentaire et pharmaceutique, des inulines commerciales avec un DP précis et des propriétés spécifiques ont été obtenues à partir de l'inuline native en utilisant des procédés de séparation physiques, chimiques ou enzymatiques**[17]**.LeTableau I. 3résume les inulines commerciales existantes sur le marché mondial.

b) Solubilité

La solubilité de l'inuline dans l'eau est principalement dépendante de la température de dissolution,de la distribution du poids moléculaire des chaines, du degré de polymérisation et dela manière dont la molécule est traitée.La solubilité augmente avec la diminution de la longueur de chaîne, contrairement à la température, où cette dernière possède une relation directe avec la solubilitécomme le montre la Figure I.8**[72,87]**.

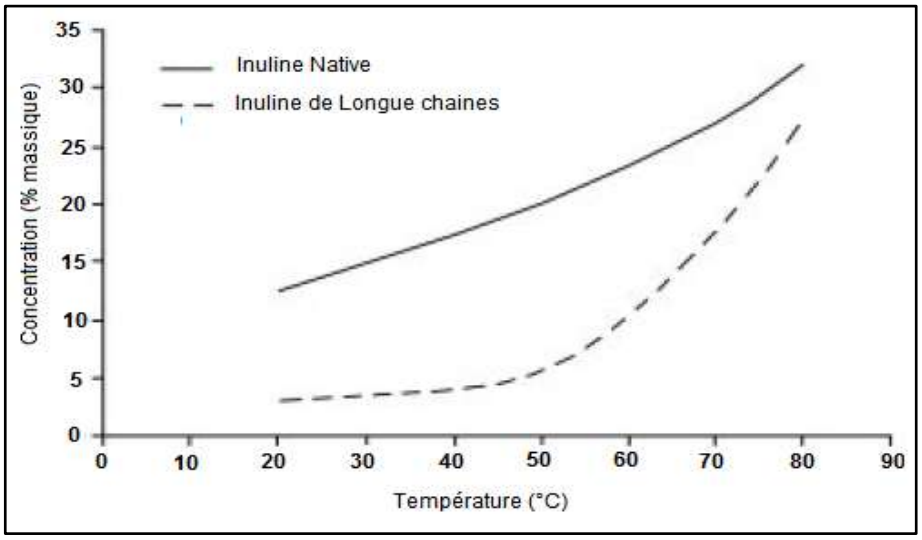


Figure I.8 : Solubilité maximale des inulines en fonction de la température**[87]**

Selon Silva**[88]**, la solubilité de l'inuline native dans l'eau à 10°C est environ 6% tandis qu'elle est de 35% à 90°C. Kim *et al.***[89]**ont reporté que l'inuline de haut degré de polymérisation (Raftiline ® HP) était presque insoluble à 25°C, mais sa solubilité augmente significativement avec l'augmentation de la température (phénomène endothermique).

Le DP et la distribution du poids moléculaire des chaines d'inuline influencent directement sa solubilité. Ainsi, Wada *et al.***[90]**ont étudié la solubilité de trois types différents d'inulines, deux commerciaux (Raftiline HP et ST) avec des DP de 23 à 25 et de 10à 12 respectivement, et une inuline produite par voie enzymatique avec un DP de 16 à 18. Leurs résultats ont montré que la Rafliline HP était moins soluble que la Raftiline ST. Cependant, l'inuline produite par voie enzymatique avait une solubilité supérieure à celle de la Raftiline ST en dépit de son DP supérieur. En principe, la solubilité des polymères diminue avec l'augmentation du DP. Cependant pour les mélanges polydisperses, il est pertinent de prendre en considération la distribution du poids moléculaire des différentes fractions. L'absence de fractions hautement polymérisées (DP>30) dans l'inuline produite par voie enzymatique pourrait expliquer sa solubilité plus élevée. Cela signifie que deux lots d'inuline, avec le même DP moyen, peuvent avoir différentes distributions de taille donc des caractéristiques différentes**[91]**.L'inuline possède aussi unesolubilité élévéedans les solvants dipolaires aprotiques tels que le DMF et DMSO et une solubilité très faible dans l'isopropanol (IP)**[92]**.

c) Viscosité

La connaissance du comportement rhéologique des aliments liquides est essentielle pour le choix des équipements des nouveaux projets, ainsi que pour l'évaluation des conditions et des méthodes de traitement de ces produits. En outre, la viscosité est un paramètre très important dans le contrôle de la qualité (évaluation sensorielle de la texture) et l'acceptabilité d'aliment de la part des consommateurs. La viscosité des polysaccharides dans les solutions dépend de la masse moléculaire,de la formule structurale et de l'orientation des groupements hydroxyles (OH) dans la molécule. Les groupes OH semblent être hautement associés au solvant en raison des fortes interactions intermoléculaires (liaison hydrogène) et les interactions dipôle-dipôle**[93,94]**.

Le comportement rhéologique des solutions d'inuline a fait l'objet de plusieurs études antérieures dont on cite Bot *et al*.**[95]**, Zimeri et Kokini**[96]**, Nogueira**[97]**et Bishay**[98]**. Ils ont trouvé qu'à des concentrations élevées en inuline, lessolutionspossèdent un comportement rhéofluidifiant d'un fluide très structuré. Bishay**[98]** a rapporté que les solutions contenant 15% d'inuline et au-dessous, présentent un comportement newtonien dessystèmes typiquement solubles oude faibles poids moléculaires. Cependant, à 25% de matières solides et au-dessus, les solutions commencent à afficher un comportement rhéofluidifiant fort.

En solution, les fructoligosaccharidesmontrent une conformation hélicoïdale tandis que les longues chaines d'inuline forment des agrégats globulaires et des agrégats en forme de tige

dans l'eau et le DMSO respectivement, avec une différence appréciable dans la viscosité intrinsèque [η]**[92,99]**.La morphologie des molécules d'inuline en solutions saline a été étudiée récemment par Dan *et al.***[92]**, trois solutions salines ont été utilisées (NaCl, Na_2SO_4 et NH_4SCN), les résultats montrent que les agrégats d'inulines deviennent plus compacts en présence d'une solution de thiocyanate d'ammonium seulement.

d) Effet de pH et de température sur la stabilité de l'inuline

L'inuline est stable à des températures allant jusqu'à 140°C (lorsqu'elle est dissoute à un pH proche de la neutralité) et peut donc être traitée facilement dans la plupart des applications alimentaires. Elle se décompose à des températures supérieures à 140°C, et sous forme de poudre la stabilité à la chaleur est bien plus haute.

L'hydrolyse de l'inuline dépend du pH, de la composition des produits alimentaires et de la combinaison temps-température (pendant le traitement thermique ou la durée de conservation). En général, l'hydrolyse de l'inuline ne se produira pas à des niveaux de pH supérieur à 4.0. À des niveaux de pH inférieurs à 4.0, l'hydrolyse peut se produire avec un taux dépendant du pH et de la température de l'échantillon. Par exemple, l'hydrolyse n'est pas observée à des niveaux de température en dessous de 10°C à tout pH entre 3.0 et 7.5, mais à un pH de 3 à 25 °C environ 10% s'hydrolysent en 1 semaine. La Figure I.9présente un exemple d'hydrolyse de 3 types d'inuline (solution 1%) dans un milieu acide (pH= 3.5) et à la température de 20°C**[87]**.

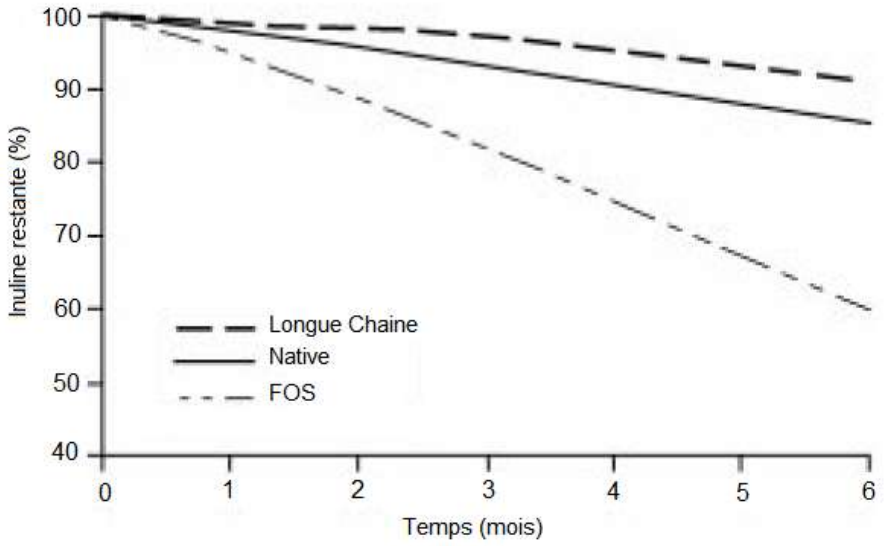


Figure I.9 : Hydrolyse de trois types d'inuline à un pH de 3.5 et température de 20°C[**87]**

e) Propriétés gélifiantes et stabilisantes

L'inuline présente des propriétés épaississantes et stabilisantes différentes de celles des hydrocolloïdes, à cause de la petite taille des moléculeset leur faible capacité de rétention de l'eau. Quand la concentration dépasse 15%, l'inuline a la capacité de former un gel d'un aspect blanc crémeux et des propriétés ressemblant étroitement celle d'un réseau cristallin de matières grasses dans l'huile.Les caractéristiques rhéologiques d'un gel d'inuline peuvent être influencées par la distribution de longueur de chaîne, la concentration, la température de préparation, la force de cisaillement et l'utilisation des cristallites **[89,100,101]**.

La formation d'un gel d'inuline est basée sur la précipitation et la cristallisation des molécules d'inuline, des travaux ont montré que seules les molécules d'inuline de longue chaine (DP>10) participent à la structure du gel tandis que les petites restent en solution**[102]**.Initialement, l'inuline native et de longue chaine forment des cristaux primaires non sphériques (0.5 à 3µm), cet ensemble comprenant des quantités importantes de la phase fluide, et ensuite les agrégats interagissent pour former un gel.

L'effet de la longueur de la chaîne et de la concentration sur la dureté des gels formés est donné par laFigure I.10. Les longues chaines d'inuline ont unefaible solubilité par rapport aux courtes chaines et donc ils se cristallisent rapidement. En utilisant la microscopie optique, Zimeriet Kokini**[96]** ontmarqué la présence de quelques cristaux d'inuline immergés dans la phase continue des solutions aqueuses de 5% d'inuline à longue chaine. Ilsont proposé que ces cristaux soientle résultat d'une insolubilité ou une recristallisation des molécules d'inuline après refroidissement.

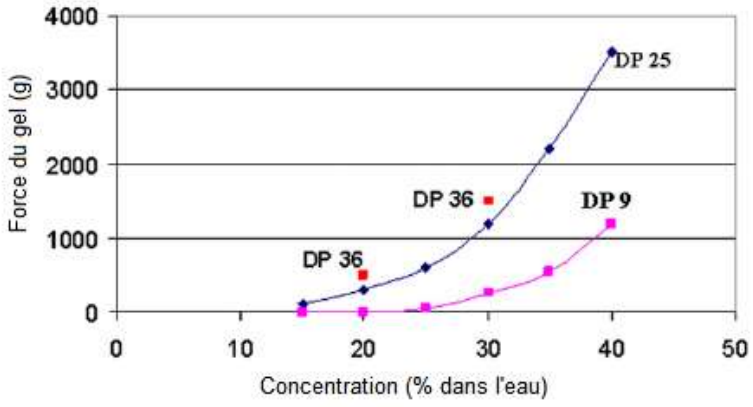


Figure I.10 : Force du gel par rapport à la concentration de l'inuline native (DP 9), inuline à longue chaîne à partir de racines de chicorée (DP 25) et d'inuline à partir de *Cynarascolymus* (DP 36). Les gels d'inuline ont été préparés par dissolution de l'inuline selon les concentrations indiquées dans l'eau à 85°C et les gels sont formésau coursde refroidissement pendant une nuit (4°C)**[103]**

Il est à prévoir que lorsque d'autres ingrédients alimentaires sont présents, le procédé de cristallisation d'inuline sera affecté étant donné que ces ingrédients peuvent influer sur la vitesse de cristallisation et la taille des cristaux. Par conséquent, les propriétés structurales, rhéologiques et organoleptiques du gel change.Bien que l'inuline n'agisse pas comme un épaississant ou un agent gélifiant.En combinaison avec les hydrocolloïdes, l'inuline influe significativement sur le comportement des polysaccharides de haute rétention d'eau tels que la gomme aguar, la gomme de xanthane, les carraghénanes, les alginates, les pectines, la maltodextrine et l'amidon**[87,103]**.

El-Nagar*etal*.**[104]**suggèrent que l'inuline peut agir en tant que stabilisant dans la formulation de la crème glacée en raison de sa capacité de fixation de l'eau, les molécules d'eau deviennent immobilisées et sont incapables de se déplacer librement entre les autres molécules du mélange. En outre, l'inuline augmente la rigidité, réduit la dureté et améliore les caractéristiques texturales, bien que les changements dans les concentrations d'inuline n'influent pas sur l'intensité des attributs de texture.

I.2.5.2. Propriétés nutritionnelles et sanitaires

Étant donné que les liaisons glycosidiques entre les résidus fructosyl sont résistantes à l'acide gastrique et, comme les humains ne possèdent pas des enzymes digestives pour dégrader ces liaisons, l'inuline et les FOS restent intacts lors de leur passage de la bouche à l'intestin grêle. Après avoir atteint le côlon, ils sont complètement fermentés par les bactéries présentes au niveau de cet organe, ce comportement justifié la classification de l'inuline parmi les fibres alimentaires**[87]**ayant les effets bénéfiques suivant**[105]:**

- une augmentation de la capacité de rétention d'eau des selles;
- une augmentation du volume des selles;
- un impact sur le temps de transit;
- une augmentation des bactéries bénéfiques du colon telles que les bifidobactéries et lactobacilles, avec une diminution des bactéries pathogènes;
- la fermentation de ces fibres donne lieu à une absorption de certains composés organiques;
- des modifications histologiques et fonctionnelles dans l'épithélium intestinal.

L'effetbifidogène des fructanes de type inuline a été attribué à la fermentation sélective de ces carbohydrates par des bifidobactéries, en supposant que seulementces derniers sont en mesure de le faire. Cependant, il a été démontré récemment que d'autres bactéries du côlon

peuvent dégrader l'inuline aussi, en particulier, les lactobacilles**[106-109]**, les bactéroides**[110,111]**, certaines entérobactéries**[112]** et des producteurs de butyrate**[113]**. La capacité de bifidobactériesà dégrader l'inuline a été attribuée à l'expression de différents gènes de β-fructofuranosidase, qui englobe les invertases, les β-fructosidases,les activités enzymatiques de type inulinase et les systèmes d'absorption desoligsaccharidescellulaires**[114]**.

Au cours du processus de fermentation, les molécules d'inuline sont principalement convertis à des acides gras de courte chaîne (SCFAs), tels que l'acétate, le propionate et le butyrate, et à d'autres acides organiques (lactate et succinate) et les gaz (H_2, CO_2)**[115]**. La production des acides diminue le pH intestinal et limite ou interdit la croissance de nombreux agents pathogènes potentiels et les bactéries de putréfaction, ainsi ces conditions stimulent le développement des bactéries bénéfiques telles que les bifidobactérie et les Lactobacilles. Ce changement dans la flore intestinale est nommé l'effet prébiotique d'inuline**[15,87]**, quistimule la croissance des bactéries bénéfique à la santé (bifidobactéries et lactobacilles) et en diminuant le nombre d'espèces potentiellement nuisibles (par exemple clostridia)**[116]**.

Les effets des fibres d'inuline comprennent la contribution à un effet amélioré de motif de défécation et de gonflement des selles, mais l'effet bifidogène peut également jouer un rôle ici. Les propriétés des fibres (la non-digestibilité) sont également pertinentes pour la faible réponse glycémique induite par les inulines et les FOS. La réponse glycémique (GR) desinulines est très faible: l'inuline de haut degré de polymérisation et l'inuline native possèdent des GR de 5 et 14 respectivement (par rapport au glucose mis en 100). Cela rend l'inuline un ingrédient approprié pour la nourriture des diabétiques, et pour le développement de produits alimentaires à faible GR**[117]**.

La fermentation de l'inuline peut conduire à une diminution du pH local en augmentant ainsi la solubilité des différents sels et par la suite leur absorption, il a été constaté que l'absorption du calcium etde magnésiumchez l'homme augmente après une consommation de l'inuline ou les FOS**[118]**. Cela peut avoir un effet positif sur la densité osseuse, comme il a été prouvé dans divers essais sur les animaux**[119]**et les bénévoles humains**[120]**.

Un autre effet attribué à l'inuline est l'abaissement des lipides sériques, ce qui peut contribuer de manière positive dans la réduction des risques de maladie cardiovasculaire. Certaines études ont montré une diminution des triglycérides ou de cholestérol**[121]**, par contre d'autres ne montrent pas d'effet**[122]**. Il semble que, en particulier, chez les volontaires dyslipidémiquesla consommation d'inuline peut diminuer les lipides sériques**[123]**.

Des données récentes montrent que l'inuline peut également avoir un effet positif sur le sentiment de satiété et l'apport énergétique. Chez les personnes qui consomment de l'inuline en tant que substitut de matière grasse dans les saucisses, la consommation d'énergie au cours de la journée est diminuée**[124]**, des données similaires ont été signalées par Cani*et al.***[125]**pourdes volontaires consommant les oligofructoses.

L'inuline peut aussi réduire le risque de cancer du côlon selon les études réalisées in vitro. En particulier, dans les essais expérimentaux des animaux atteints d'un cancer du côlon induit chimiquement, des résultats positifs ont été obtenus montrent que la survenue d'un cancer du côlon peut être évitée suite à la consommation d'inuline, et en particulier en combinaison avec des probiotiques**[126]**. Il a également été rapporté que certains biomarqueurs de risque de cancer du côlon chez l'homme peuvent être affectés de telle sorte que ce risque peut être réduit par des symbiotiques à base d'inuline**[127]**.

La consommation quotidienne moyenne de l'inuline et des oligofructoses est estimée entre 1 et 4g aux Etats-Unis, avec un apport plus élevé (3-11g) en Europe. Cette classe de fibres a été étudiée dans une série de tests toxicologique classiques. Les études ont démontré qu'une administration alimentaire élevée en inuline, ne cause pas la mortalité, la morbidité, la toxicité pour certain organes cible, la toxicité pour la reproduction, ou la cancérogénicité, ainsi l'absence de mutagènes ou potentiel génotoxique**[105]**. Selon Gibson *et al.***[128]**,la consommation de 15g/jour d'inuline sur une période plus de 2 semaines augmente significativement le nombre de bifidobactéries, en les rendant la population dominante dans le colon (Figure I.11).

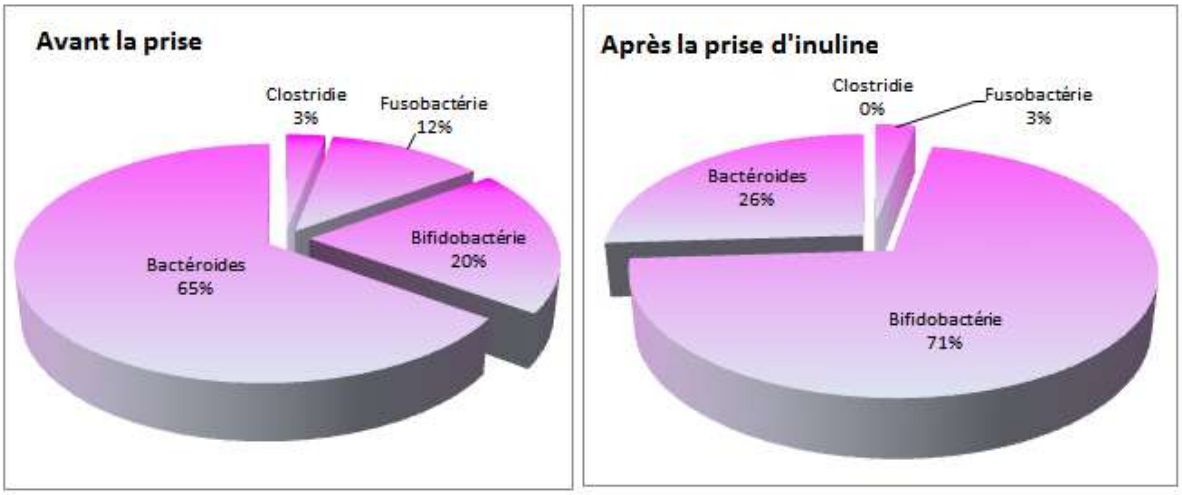


Figure I.11 : Simulation sélective des bifidus après la prise d'inuline étude in vivo sur des volontaires humains**[128]**

I.2.6. Applications de l'inuline

I.2.6.1. Applications agro-alimentaires

L'inuline et les FOS peuvent être utilisés soit pour leurs propriétés nutritionnelles ou technologiques, mais ils sont souvent appliqués pour offrir un double avantage: une qualité organoleptique améliorée et une composition nutritionnelle plus équilibrée. Elle rentre dans la formulation de nombreux produits agroalimentaires, comme le chocolat, les produits laitiers, les desserts glacés, les produits de la boulangerie et le pain, la margarine, les préparations de fruits, les vinaigrettes, et les produits diététiques et substituts de repas.

L'utilisation d'inuline et les FOS comme ingrédient fibreux conduit souvent à une amélioration du goût et de la texture des produits de boulangerie, et une augmentation de la durée de vie toute en gardant les pains et les gâteaux humides et frais pour une longue période**[4]**.L'inuline permet aussi le développement des aliments faibles en gras, sans compromettre le goût ou la texture tels que le beurre, la margarine, les pâtes laitières à tartiner, les fromages à la crème et les fromages fondus. Elle permet le remplacement d'une quantité importante de graisse et la stabilisation de l'émulsion, tout en offrant une texture tartinable. L'inuline à longue chaîne peut mimer les graisses grâce à sa capacité à former des microcristaux, qui interagissent les uns avec les autres pour former de petits agrégats occluant une grande quantité d'eau; ce qui crée une texture fine et crémeuse similaire à celle de la graisse**[129]**.

Dans les produits laitierspauvres en matières grasses tels que les boissons à base de lait, fromages frais, yaourts, crèmes, et desserts laitiers, l'ajout d'une petite quantité d'inuline donne une saveur plus équilibrée et une texture crémeuse. Selon Debon*et al.***[130]**, l'addition de 5% d'inuline (à longue chaîne) au lait fermenté (de faible teneur en gras) augmente de manière significative la viscosité apparente ainsi que le temps d'écoulement, ces observations pourraient être expliquées par différents facteurs: la capacité de l'inuline à retenir l'eau, l'interaction de l'inuline avec des protéines de lait qui peut conduire à une augmentation de la masse molaire et par la suite une augmentation de la viscosité, ou par une plus grande teneur en solides totaux**[131]**.

Dans les mousses laitières (chocolat, fruits, yaourts ou fromages frais), l'incorporation de l'inuline améliore le processus de production et la qualité du produit résultant. Ce dernierconservesa structure typique pour un temps plus long. Dans les desserts glacés, elle offre un traitement facile, une texture similaire à celle des graisses, d'excellentes propriétés de fusion, ainsi qu'une stabilité au congélation-décongélation**[132]**. Le remplacement des matières grasses peut également être appliqué dans les substituts de repas, des produits à base

de viande, les sauces et les soupes. Par exemple, les produits à base de viande et pauvres en matières grasses peuvent être obtenus avec une texture plus crémeuse et juteuse et une stabilité améliorée en raison de l'immobilisation des molécules d'eau. L'inuline a également trouvé une application comme une fibre de faible valeur énergétique dans la production du chocolat souvent en combinaison avec un polyol ou avec du fructose**[4]**.

I.2.6.2. Applications pharmaceutiques

L'inuline est une molécule inerte chimiquement, non toxique et peut former des hydrogels, ces propriétés lui assurentdes applications pharmaceutiques importantes et diversifiées en tant qu'excipient, stabilisant des vaccins, agent de vectorisation des médicaments ou pour la mesure clinique de la fonction rénale.

- ***Stabilisation des vaccins***

Les médicaments à base de protéines et de peptides, y compris les anticorps monoclonaux, sont de plus en plus utilisés dans la thérapie humaine. Un inconvénient de ces médicaments est leur labilité, en particulier en solution aqueuse, ce qui peut limiter leur durée de vie. Le séchage est un moyen efficace pour éviter ce phénomène, nécessitant souvent l'utilisation d'un agent protecteur pour éviter la perte d'activité de la protéine.Les polysaccharides peuvent agir comme des agents de protection par formation des liaisons hydrogènes entre les groupements hydroxyles des polysaccharides et la molécule de protéine (remplacement des molécules d'eau par les polysaccarides au cours de séchage). Cela aide à maintenir la conformation native de la protéine et de prévenir sa dénaturation.Il est essentiel que le polysaccharide reste à l'état vitreux pendant la manipulation et le stockage ($T_g > T_{ambiante}$), car la mobilité moléculaire dans un polymère vitreux est extrêmement faible et par la suite une protection maximale de la protéine immobilisée est assurée**[133,134]**.

Le choix des polysaccharides, agissant comme des agents de protection lors de la lyophilisation des médicaments à base de protéines et de peptides, dépend de quelques exigences relatives telles que : une température de transition vitreuse élevée, faible hygroscopicité, faible taux de cristallisation et l'absence des groupes réducteurs. Par rapport au tréhalose, un stabilisateur de protéine fréquemment utilisée, l'inuline présente une hygroscopicité similaire.De plus, l'inuline de haut poids moléculaire possède moins de groupes réducteurs, une température de transition vitreuse plus élevée et une faible tendance à se cristalliser,d'où les études réalisées ont montré que cette molécule est un bon stabilisateur des protéines dans diverses conditions et sous différentes contraintes**[133,135]**.L'inuline a été

utilisée avec succès pour stabiliser les protéines pendant le séchage par pulvérisation**[136-138]**, la lyophilisation**[139-143]** et la lyophilisation par pulvérisation (spray-freeze drying)**[138,139,144]**. Cependant, elle contient quelques groupes réducteurs, ce qui limite son application dans une certaine mesure. Le nombre de ces groupesréducteurs est généralement limité et ildépend de la méthode d'obtention d'inuline et de son DP**[135]**.

L'inuline, le tréhalose et le dextrane ont été identifiés comme cryo- et lyoprotecteurs appropriés pour le constituant principal du vaccin sous-unitaire contre la grippe, à savoir l'hémagglutinine (HA), ces composés stabilisent HA lors de la congélation et la lyophilisation**[145]**. Pendant le stockage de 4 protéines modèles(après lyophilisation) à une température inférieure à la température de transition vitreuse T_g de la formulation, l'inuline a montré une bonne stabilisation de la protéine par rapport à un dextrane de taille similaire. Tonnis et *al.***[143]**ont suggéré que la flexibilité moléculaire très élevée des molécules d'inuline engendre un faible encombrement stérique de l'inuline lors de son interaction avec la protéine, et par la suite une bonne stabilisation de cette dernière.La lyophilisation de la phosphatase alcaline sans stabilisant réduit son activité à environ 5%, mais quand on a ajouté inuline, le tréhalose ou le glucose, l'activité totale a été maintenue**[133]**. Lorsqu'elleest ajoutéeà la protéine plasmatique bovine, l'inuline a également réduit la dénaturation de la protéine pendant la lyophilisation avec une concentration optimale de 10% (m/v)**[141]**.

L'inuline a également été appliquée en tant que stabilisant de protéines pendant l'extrusion thermofusible, dans lequel un produit à base de polymère pour la libération contrôlée de la protéine est créé.Il a été suggéré que, pour une protéine plus labile, l'inuline pourrait également fournir une protection à la contrainte thermique induite par ce procédé**[146]**.

En dehors de la stabilisation des protéines, l'inuline a été utilisée pour stabiliser plusieurs systèmes pertinents sur le plan pharmaceutique, par exemple, les liposomes, les polyplexes à base de polyéthylèneimine, des lipoplexes**[147,148]**, les polymersomes**[149]**, les Virosomes de la grippe avec et sans plasmide d'ADN encapsulés**[150]**, le virus de la grippe entier inactivé**[151]**, et l'adénovirus recombinant**[152].**

- ***Vectorisation des médicaments***

Les systèmes d'administration de médicaments ont pour but de maximiser l'exposition d'un médicament dans le tissu nécessitant un traitement, et peuvent également être utilisés pour stabiliser les médicaments labiles. Cela permet de réduire la posologie, les effets secondaires et les coûts, tout en optimisant l'efficacité et les mécanismes d'administration préférée pour le patient.

Pour une administration orale, les médicaments doivent être dissous avant qu'ils puissent être absorbés par la membrane intestinale. Par conséquent, la biodisponibilité des médicaments ayant une faible solubilité dans l'eau est généralement médiocre, car ils se dissolvent lentement dans la voie gastro-intestinale. L'une des stratégies qui peuvent être appliquées pour augmenter la vitesse de dissolution est la production d'une dispersion solide qui est constituée d'un support hydrophile, dans laquelle les médicaments sont finement dispersés. Lorsque ce support soluble se dissout rapidement, le médicament peu soluble est hydraté facilement, ce qui entraîne une dissolution plus rapide. L'inuline a été utilisée pour produire des dispersions solides de divers médicaments peu solubles**[153-156]**.

Le comportement de dissolution des comprimés fabriqués à base d'une dispersion de diazépam dans l'inuline était significativement meilleur que ceux avec des disaccharides tels que le saccharose ou le tréhalose. Il a été constaté que le taux de dissolution de disaccharides était extrêmement élevé, ce qui entraîne la sursaturation du diazépam dans l'environnement proche des comprimés à dissolution, l'amenant à se précipiter ensuite en gros cristaux avec des conséquences évidemment néfastes sur le profil de libération. Cette cristallisation incontrôlée n'a pas eu lieu pour l'inuline incluse dans le diazépam, en raison de la faible vitesse de dissolution de l'inuline**[154]**.

La libération de TMC240, un inhibiteur de la protéase du VIH, a été améliorée in vitro et in vivo à la fois après administration par voie orale en raison de son incorporation dans une dispersion solide d'inuline**[156]**. La lyophilisation de nifédipine (avec des concentrations relativement faibles ≤10%) avec l'inuline directement dans des capsules de gélatine a augmenté la vitesse de dissolution**[157]**. L'inuline améliore aussi la dissolution d'irbesartan dans un mélange physique, avec une augmentation progressive des vitesses de dissolution avec l'augmentation de la teneur en inuline**[158]**.

Une autre inuline amorphe et non modifiée a été montrée comme un matériau de charge-liant approprié pour la production de comprimés, avec un temps de désintégration dépendant de la longueur de la chaîneutilisée**[159]**. Il était également possible de produire des comprimés à partir de formulations d'inuline lyophilisés, dans ce cas, le préconditionnement de la poudre d'inuline à 45% d'humidité relative avant la compression a conduit aux meilleurs comprimésobtenus**[160]**. Il a également été possible de réaliser un comprimé pour l'administration sublinguale de son nom THC (peu soluble) sur la base d'une dispersion solide avec l'inuline. Pour une distribution normale dans le tractus gastro-intestinal, la dissolution de 80% du médicament s'effectue danspresque 20 à 30min, alors que les formulations

sublinguales nécessitent un temps de dissolution de quelques minutes au plus. La formulation sublinguale à base d'inuline a montré la libération complète dans 3min**[155]**.

Bien que l'inuline soit capable de former des gels aqueux sans aucune modification chimique, son utilisation comme un hydrogel dans les applications d'administration de médicaments exige sa réticulation pour améliorer la stabilité du gel, ce qui permet une libération plus contrôlée du médicament. L'inuline est un vecteur idéal pour délivrer des médicaments au côlon vu que les liaisons glucidiques β-(2→1) sont stables à l'action enzymatique endogène du système digestif humain, libérant ainsi le médicament dans le colon après la dégradation de l'inuline par les bactéries coliques. Ces hydrogels doivent être stables à la gamme de pH et de force ionique observée dans le tractus gastro-intestinal humain et le gonflement soit maximal dans le colon de telle sorte que la majeure partie du médicament est libéré durant le transit du côlon**[134]**.

- ***Adjuvant des vaccins***

En plus d'être un stabilisant approprié des vaccins, plusieurs travaux ont rapporté à l'inuline un rôle d'adjuvant afin d'obtenir une réponse immunitaire à la vaccination. Les types cristallins de l'inuline, γ- et δ-inuline, qui sont pratiquement insolubles à 37°C, ont été utilisées. Ces formes cristallines se composent d'une inuline ayant une masse moléculaire relativement élevée, les formes solubles α et β contiennent des fractions d'inuline de faible poids moléculaire. Les adjuvants sont des agents qui agissent de manière non spécifique pour augmenter la réponse immunitaire spécifique ou une réponse à un antigène co-administré. L'inuline microparticulaire (MPI) est un bon candidat pour remplacer les adjuvants traditionnels des dérivés d'aluminium, car elle stimule à la fois l'immunité humorale (anticorps médié) et cellulaire (les Lymphocyte T à médiation) des antigènes co-administrés. La sécurité de l'inuline et l'absence de toxicité sont les principaux attributs favorables à son utilisation comme adjuvant de vaccin**[134]**.

Ils ont trouvé que δ-inuline est plus immunoactif que γ-inuline**[161]**. Jusqu'à présent, elle a été appliquée pour améliorer la puissance d'un vaccin antigrippal saisonnier trivalent humain chez la souris**[162]**, et une formulation pulmonaire du vaccin entier de la grippe H1N1 inactivé chez la souris**[163]**et l'hépatite B chez les souris, les cobayes et les humains**[164]**. Il a également été montré que la co-adminitration de δ-inuline avec un vaccin inactivé de la grippe H1N1 atteint une meilleure réponse immunitaire chez les souris enceintes**[165]**.

Contrairement à ce qui précède, Kumar et Tummala**[166]**ont indiqué qu'il est possible d'utiliser l'inuline soluble pour la stabilisation des vaccins et comme adjuvant, et ils ont développé des microparticules d'inuline solubles chargées avec des sels d'ovalbumine.

- ***Mesure de la fonction rénale***

Une application largement établie de l'inuline est le diagnostic pour les tests de la fonction rénale où elle est injectée par voie intraveineuse. L'inuline est parfaitement adaptée à cette application, car ellen'est pas métabolisée, mais distribuée sur le volume extracellulaire seulement. En outre, elle est excrétée par filtration glomérulaire et non résorbée par les tubules rénaux. Cela en fait la substance la plus précise pour la détermination du taux de filtration glomérulaire**[167]**.

I.3. Extraction de l'inuline

En raison de sa disponibilitédans la natureet de son rôlesignificatifdans l'industrie,l'extraction, la purification et la caractérisation desfructanesde type inulineattirent une grande attentionces dernières années**[3]**.

A l'échelle industrielle, les compagniesbelges ORAFTI et le groupe COSUCRA sont les leaders de production d'inuline (74% de la production mondiale d'inuline) à partir des racines de chicorée. La production d'inuline est principalement constituée de deux étapes, la première étape se résume dans l'extraction et la purification primaire, ce qui donne un jus contenant l'inuline impure. La deuxième étape est une phase d'affinage qui se traduit par un produit commercial pur à 99.5%**[168]**.

I.3.1. Prétraitement de la matière végétale

Dans le procédé utilisé par ORAFTI, La première phase du processus d'extraction d'inuline est similaire au processus de la betterave à sucre. Les racines sont récoltées et stockées (à 10°C) dans des piles surterrain pour une période ne dépassant pas les 7 jours afin de minimiser les pertes métaboliques. Ces dernières sont deux fois plus élevées que celles observées dans la betterave à sucre, les valeurs maximales de pertes dans les racines de chicorées sont enregistrées durant la $3^{ème}$ à la $5^{ème}$ journée de stockage et elles varient de 0.05 à 0.1% en poids de racine par jour. Les racines sont transportées à l'usine, lavées par un jet d'eau et coupées en tranches**[169]**.

I.3.2. Extraction et purification primaire

L'inuline brute est ensuite extraite à partir des racines traitées par diffusion dans l'eau chaude (70-80°C) dans un diffuseur à contre-courant pour 60-90min (Figure I.12). Les racines lessivées sont séchées et vendues comme aliments pour les animaux. La première purification est réalisée par chaulage et carbonatation de jus extrait à pH élevé (~11).Le précipité de $CaCO_3$, les peptides, les anions, les protéines dégradées, et les colloïdes sont piégés dans des blocs.Cela génère un produit de type mousse, riche en calcium et en matières organiques, et qui est utilisé par les agriculteurs afin d'améliorer la qualité du sol**[168]**.

I.3.3. Purification secondaire

Dans la deuxième étape, le jus brut est encore purifié en utilisant les échangeurs d'ions cationiques et anioniques pour la déminéralisation et du charbon actif pour la décoloration. La technologie employée est comparable à celle du traitement de l'amidon**[46]**.

L'utilisation des procédés d'échange d'ions à des fins de déminéralisation a souvent été critiquée comme inacceptable pour l'environnement à cause des produits chimiques utilisés habituellement pour la régénération (NaOH et HCl). La compagnie ORAFTI utilise NH_3 et H_2SO_4pour la régénération des échangeurs d'ions. les sels de $(NH_4)SO_4$ et K_2SO_4sont valoriés par précipitation et séparés de la liqueur mère par centrifugation et vendus sous forme d'engrais**[169]**.

I.3.4. Récupération de l'inuline

Après la déminéralisation et la décoloration, le jus est stérilisé à travers un filtre de taille 0.2µm, puis évaporé et séché par atomisation. Pour l'inuline, le séchage par pulvérisation est la technologie la plus pratique pour convertir le jus purifié en un produit commercialstable etstockable**[46]**.

Le processus décrit dans la Figure I. 12 est non seulement utilisé pour la production d'inuline, mais aussi pour la production des sirops de fructose. Le sirop de fructose obtenu a une teneur élevée en fructose, soit une moyenne de 85% ou plus, une faible teneur en oligosaccharide (<4%) et sans arrière-goût**[169]**.

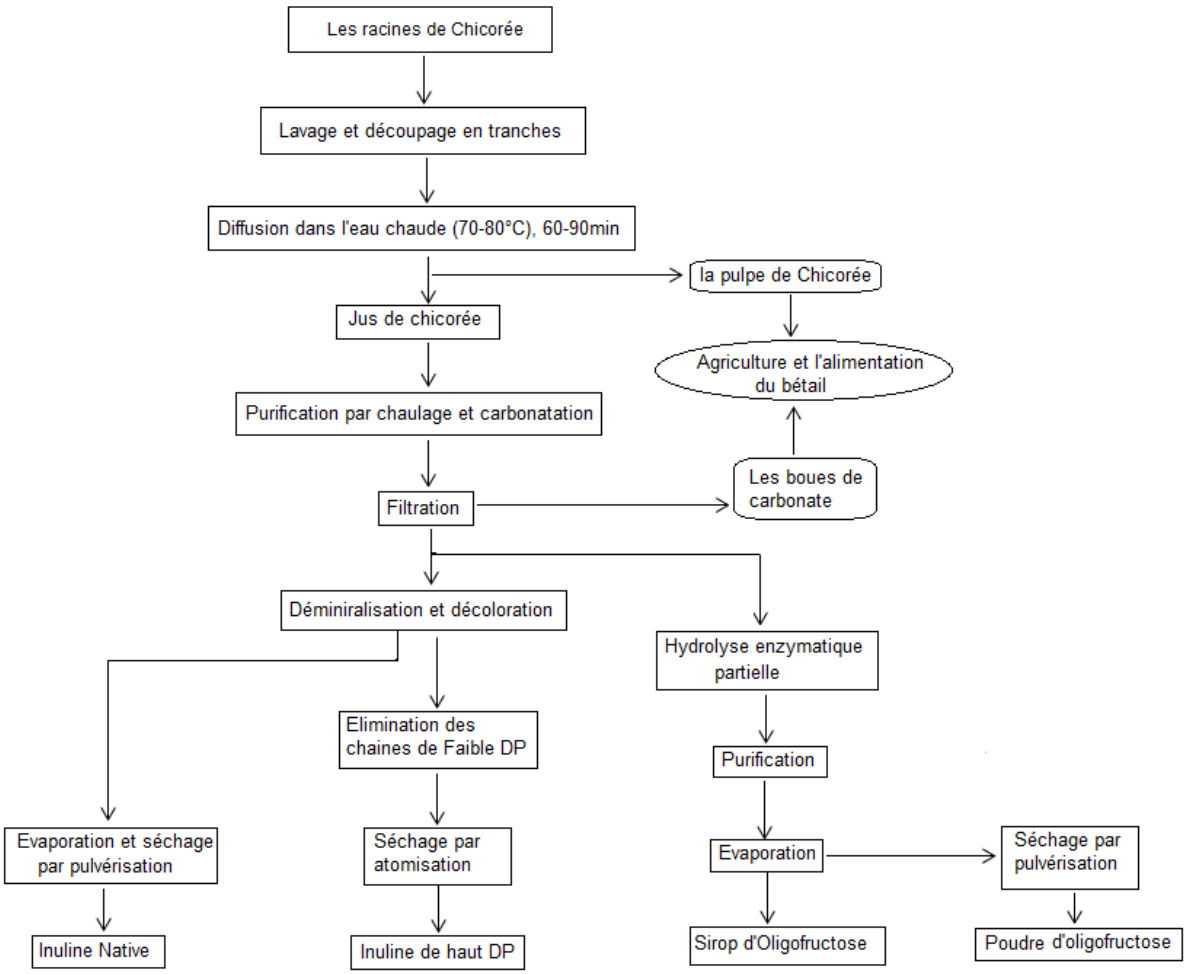


Figure I.12 : Processus de production industrielle de l'inuline et des oligofructoses**[4,46]**

A l'échelle du laboratoire, plusieurs travauxsur la préparationdel'inulineont été signalés, y comprisl'extraction par chauffage classique (stirringexraction),extraction assistée parultrasons(UAE), extraction assistée par micro-ondes (MAE) et l'extractionsimultanéedes ultrasons/micro-ondes (UMAE)**[170]**.Ces extractions ont été réalisées sous différentes conditions et à partir de plusieurs sources notament les tubercules de topinambour (*Helianthustuberosus* L.)**[55,18,171-173],** les artichauts (*CynaraScolymus* L.)**[16]**, les racines de Chicorée (*Cichoriumintybus*)**[174,175],** les racines de bardane (*Arctiumlappa*)**[170]**, les racines d'elecampane*(Inulahelenium*L.)**[176]**, les racines de *MorindaOfficinalis***[177]**ainsi que l'agave bleue (*Agave tequilana* Weber var. azul)**[178]**.

I.3.5. Analyse et caractérisation structurale de l'inuline

Les fructanes sont habituellement disponibles sous forme de mélanges complexes de carbohydrates avec différents DP, composition en monomères et liaisons glycosidiques, ce

qui rend leur analyse une étape fondamentale pour obtenir des informations de base sur le polysaccharide lui-même ainsi que d'approfondir la compréhension de son mécanisme d'action, qui dépend de sa structure chimique. Cependant, la séparation de mélanges complexes des oligosaccharides n'est pas simple, en raison de la similitude de structure et de poids moléculaire ; en outre, leur identification est également entravée par l'absence de normes commerciales disponibles**[179]**.

Le dosage et l'identification des monosaccharides constitutifs des fructanes nécessitent la rupture de toutes les liaisons glycosidiques. L'analyse repose d'une part sur les techniques colorimétriques et d'autre part sur les techniques chromatographiques.

Les méthodes colorimétriques sont des techniques de dosage simples à mettre en œuvre et rapides, qui s'appliquent aussi bien à des résidus qu'à des extraits et permettent de doser de manière globale les sucres totaux. Le principe des dosages colorimétriques repose sur la condensation, par estérification, d'un chromogène avec les produits de déshydratation des pentoses et des hexoses. En milieu acide fort et à chaud, ces oses se déshydratent respectivement en des produits du furfural et 5-hydroxyméthylfurfural. Les chromophores ainsi formés adsorbent dans le domaine du visible proportionnellement avec la quantité de sucres présents. Le dosage de la quantité des sucres totaux, mesurée selon la méthode de Dubois, utilise le phénol plus sensible à la détermination quantitative des oses que les chromogènes tels que le naphtol et l'anthrone**[180]**.

Le dosage des oses réducteurs peut être déterminé par la méthode de Nelson-Somogyi, la méthode de l'acide parahydroxybenzoïque hydrazide (PAHBAH) de Lever, ou encore celle de l'acide dinitrosalicylique. Bien que cette dernière méthode ait été utilisée par les chercheurs pour la détermination de l'inuline, la fiabilité et la répétabilité ont été considérées comme non satisfaisantes parce que le résultat peut être affecté facilement par la quantité de réactif, le temps de réaction et d'autres détails de la réaction **[168]**.

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) est une méthode analytique fiable pour la détermination quantitative des sucres (mono-, di- et certains oligofructose) avec un degré de polymérisation qui se situe entre 2 et 9. Mais l'analyse des carbohydrates complexes se traduit généralement par une mauvaise résolution, telle que la tendance des pics à être superposée, avec une résolution de moins en moins précise à partir d'un DP de 4. En outre, le détecteur d'indice de réfraction (RI), qui est utilisé dans la plupart des analyses des polysaccharides, présente quelques inconvénients tels que : une faible sensibilité, le manque de compatibilité avec le gradient d'élution et une spécificité réduite, ce qui peut donner des

interférences entre les polysaccharides et des composés non glucidiques à des basses longueurs d'onde**[181,182]**.

La chromatographie gazeuse (CG) est une autre méthode pour la détermination de l'inuline.SelonJoye etHoebregs**[183]**, un procédé de chromatographie capillaire en phase gazeuse à haute température a été développé pour analyser les fructo-oligosaccharides. Cette méthode est précise et spécifique, mais elle est utilisée uniquement pour l'inuline avec un DP inférieur à 10.

Néanmoins, la chromatographie échangeuse d'anions à haute performance, couplée à un système de détection ampérométrique pulsé (HPAEC-PAD), est une technique qualitative et quantitative très performante pour l'analyse directe (sans étape de dérivatisation) des mono-, di-, oligo- et des polysaccharides.La HPAEC prend avantage des propriétés faiblement acides des sucres, permettant une séparation sélective de ces molécules à un pH élevé et sur une phase stationnaire échangeuse d'anions**[184]**. Cette technique chromatographique a été classée récemment comme étant la méthode la plus puissante pour l'analyse directe de l'inuline, car elle fournit simultanément le contenu en inuline et la distribution de degré de polymérisation.

Le couplage Chromatographie gazeuse- Spectroscopie de masse (GC-MS), la résonance magnétique nucléaire (RMN), La désorption-ionisation laser assistée par matrice-spectrométrie de masse TOF (MALDI-TOF) ont réussi à obtenir des informations structurales sur les fructanes, principalement le DP**[3]**.

La spectroscopie RMN est une méthode physico-chimique non destructive permettant, à partir de quelques micromoles de polysaccharides, de réaliser le dosage et l'identification de chacun des monosaccharides, d'en préciser l'enchaînement, leurs points de branchement et leurs anoméries. Barclay *etal.***[185]**ont proposé une nouvelle procédure à base de RMN pour contrôler l'hydrolyse de l'inuline en temps réel et en fonction de la variation progressive de son DP.

I.4. Modification chimique de l'inuline

Les polysaccharides offrent un ensemble impressionnant de structures primaires et de conformations. Leurs omniprésences et leurs divers rôles dans les systèmes biologiques témoignent du large spectre de leurs fonctionnalités. Il est connu depuis longtemps que les caractéristiques et les utilisations des polysaccharides natifs puissent être considérablement élargies par des modifications de sa structure primaire et la présence de charge anionique ou cationique. Ces transformations vont influer directement sur la conformation du polymère,

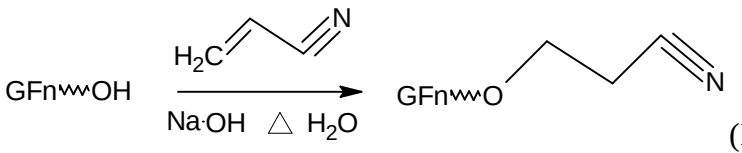
son hydrophobie, sa solubilité, voire sa stabilité. Toutes ces modifications auront donc un impact conséquent sur les propriétés biologiques, chimiques et physiques.

De nombreuses connaissances sont disponibles concernant la modification de polysaccharides. Les techniques de modification des polysaccharides peuvent être classées en deux catégories selon qu'elles soient sélectives ou non. Les méthodes non sélectives introduisent les substituants de façon plus ou au moins aléatoire. Les méthodes sélectives exploitent les différences de réactivités chimiques des groupements fonctionnels disponibles tels que les fonctions carboxyles, hydroxyles ou amines. En absence de tels sites, la sélectivité de la réaction dépend d'activations sélectives ou de l'introduction des fonctions réactives appropriées par des méthodes chimiques ou enzymatiques**[186]**.

L'inuline représente une ressource renouvelable qui peut être modifiée pour former une section de produits, dont beaucoup ont des caractéristiques supérieures aux produits similaires provenant de polysaccharides à base de glucose.La modification de l'inuline améliore ses propriétés fonctionnelles, ouvrant la porte à de nombreuses nouvelles utilisations. La plupart de ces composés sont facilement biodégradables. Dans ce qui suit nous allons présenter les différentes méthodes de modification à l'exception des réactions d'hydrolyse, en indiquant les zones d'application industrielle de l'inuline modifiée.

I.4.1. Cyanoéthylation de l'inuline

La cyanoéthylation des polysaccharides a été largement étudiée sur l'amidon et la cellulose. Les groupes hydroxylés (typiquement le C-4) sur la molécule réagissent avec l'acrylonitrile en présence d'un alcali pour former un ester de cyanoéthyle. La réaction, qui est une addition nucléophile de type Michael, peut être présentée par l'équation de la réaction (équation I.3)**[187]**:



(I.3)

La réaction de cyanoéthylation, à l'exception de certaines amines, nécessite généralement la présence d'un catalyseur alcalin. Les catalyseurs typiques sont les oxydes, les hydroxydes, les alcoolates, les hydrures, les cyanures, et les amides de métaux alcalins de sodium et de potassium, ainsi que les métaux alcalins eux-mêmes. Les hydroxydes d'ammonium quaternaires fortement basiques, en particulier l'hydroxyde de benzyltriméthylammonium (Triton B), sont particulièrement efficaces en raison de leur solubilité dans les milieux

organiques. Les quantités de catalyseur nécessaires pour cette réaction sont en générale de l'ordre de 1 à 5% par rapport au poids de l'acrylonitrile**[188,189]**.

Étant donné que l'eau diminue l'efficacité de la cyanoéthylation de l'inuline s'il est utilisé comme solvant, enréagissant avec l'acrylonitrile formant 3-hydroxypropanenitrile et le bis (2-cyanoéthyl) éther, les conditions de réaction ont été optimisées en terme de quantité d'eau minimale et indispensable pour la réaction, de la température, de concentration de l'hydroxyde de sodium, et du rapport molaire de l'acrylonitrile/inuline. Les résultats obtenus ont montré que la plus grande efficacité de l'acrylonitrile (AE) a été obtenue avec un rapport molaire de l'inuline/eau/NaOH égal à 1/17/0.2 à 45°C et après 30 minutes de réaction**[190]**.

La répartition des substituants dans le O-(2-cyanoéthyl) inuline confirme que la position du groupe hydroxyle sur le carbone C-4 est la plus réactive. Ce résultat peut être expliqué par la plus forte acidité de l'alcool secondaire sur le carbone C-4 par rapport à l'alcool primaire sur le carbone C-6, et par l'encombrement stérique sur le C-3 qui est orienté en position *cis* par rapport au groupe hydroxyle en C-6**[191]**.

En plus des propriétés intéressantes des polysaccharides cyanoéthylées (bonnes propriétés émulsifiantes, meilleure solubilité des dérivés d'inuline), les groupes nitriles sont des groupes fonctionnels réactifs, qui peuvent être convertis en d'autres groupes fonctionnels tels que les amines par réduction, ou les amides et les carboxylates par hydratation. les polysaccharides à base de polycarboxylates peuvent être appliquées dans des domaines variés, en tant qu'agent séquestrant dans des formulations détergentes, inhibiteur de cristallisation, support d'ion métallique ou en tant qu'agent de dispersion**[190]**.

I.4.2. Estérification de l'inuline

L'estérification de l'inuline (Figure I.13) est réalisée par une réaction avec les chlorures d'acide ou les anhydrides d'acides carboxyliques appropriés dans lesquels la taille de la chaîne alkyle introduite peut varier de 1 à 22 atomes de carbone.

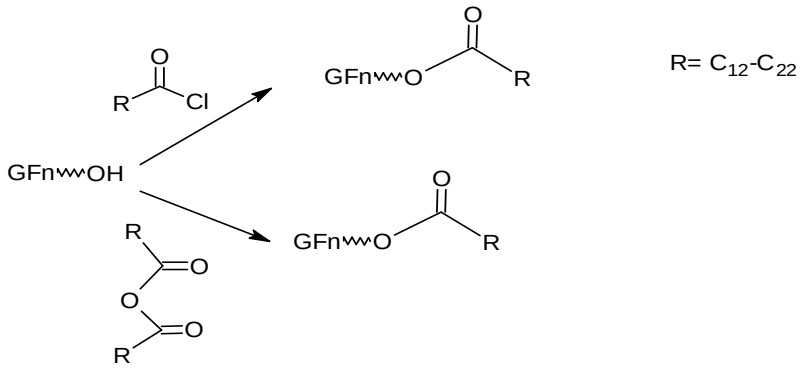


Figure I.13 : Mécanisme réactionnel de l'estérification de l'inuline.

Cette réaction se déroule habituellement dans un milieu organique en présence de la pyridine, le diméthylformamide, le diméthylsulfoxyde, ou en absence d'un solvant en utilisant un malaxeur ou (de préférence) d'une extrudeuse afin de réduire la charge thermique. La vitesse de la réaction peut être augmentée en utilisant un catalyseur acide ou basique, par exemple le 4-(diméthylamino) pyridine, l'acétate de sodium, le carbonate de potassium, les résines échangeuses d'ions sous forme acide ou basique. Avec cette méthode, il est possible d'obtenir des dérivés ayant un degré de substitution (DS) entre 0.3et 1, à l'exception de l'inuline acétylée où il est également possible d'avoir une dérivatisation avec un DS de 3**[191]**.

Les esters d'inuline ont un large éventail d'applications en fonction de la longueur de la chaîne alkyle et le degré de substitution.Les esters d'inuline avec une chaîne courte et un faible degré de substitution (DS <1) sont en mesure de diminuer la tension superficielle de la solution aqueuse. Ils forment des micelles à faible concentration, ce qui les rend appropriés comme additifs dans la formulation des détergents, des liants dans les peintures et des adoucissants. Les mêmes esters avec un haut degré de substitution (DS>1) peuvent être utilisés comme plastifiants**[192]**. Par contre, les esters d'inuline avec une longue chaîne alkyle peuvent être utilisés comme agents tensioactifs, détergents et émulsifiantsdans les produits cosmétiques et pharmaceutiques**[193]**, additifsdans l'industrietextile, et ils sont utilisés dans l'industrie du papier ou de la peinture en raison de leur activité de surface élevée.

Les esters d'inuline sont également appliqués en tant qu'agent de modification de la cristallisation. L'efficacité de séparation pendant la fractionnation des huiles de triglycérides peut être augmentée en ajoutant une petite quantité d'un agent modificateur de cristallisation. Ces produits contiennent au moins 50% des groupes hydroxyles estérifiés avec des acides gras non ramifiés (C_8-C_{24}), et les groupements restants sont estérifiés avec des chlorures d'acides de C_1-C_7, de préférence avec du chlorure d'acétyle. Un très bon résultat a été obtenu pour le fractionnement de l'huile de palme par addition de 0.01 à 1% en poids des dérivés d'inuline par rapport à la quantité totale d'huile**[194]**.

I.4.3. Ethérification de l'inuline

L'éthérification de l'inuline en solution aqueuse basique a été décrite pour la première fois au début du XXe siècle par Tomecko et Adams**[195]**, et plus tard par Schacht *etal.***[196]**en 1984 en utilisant le bromure d'allyle et l'épichlorhydrine, respectivement. Kunz et Haji**[197]**ont rapporté l'éthérification d'inuline avec les époxydes d'alkyles. Toutefois, cette dernière méthode est limitée aux époxydes d'alkyle solubles dans l'eau telle que l'éthylène et l'oxyde de propylène avec des rendements de réactions supérieurs à 70%. Les époxydes

moins solubles, tels que l'époxyde de butyle ou 1,2-hexyle époxyde ont donné des rendements de réaction ne dépassant pas 40%.

Au cours de l'éthérification d'inuline avec les époxydes d'alkyle, la base utilisée agit en tant qu'agent d'activation des groupes hydroxyles qui peuvent réagir avec l'époxyde par une réaction d'ouverture de cycle. Ainsi, en présence d'une base, le 1,2-alkylépoxyde réagit avec l'inuline (GF_nOH)en donnantle β-hydroxyalkyléther (Figure I.14-a). En présence d'eau, l'époxyde peut également être hydrolysé en donnant un produit secondaire indésirable(1,2-glycols) (Figure I.14-b) qui, en même temps, peut être activé par la base pour réagir avec une autre molécule d'époxyde donnant les oligomères de glycols (Figure I.14-c)**[198]**.

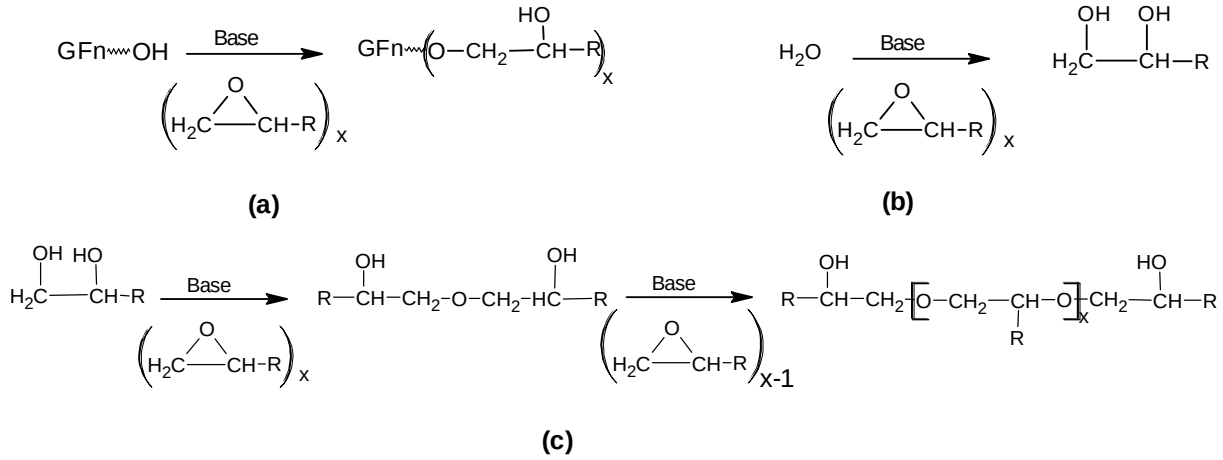


Figure I.14 : Mécanisme réactionnel de l'éthérification de l'inuline

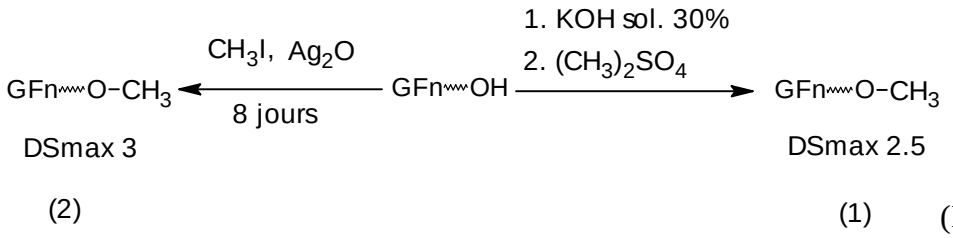
Récemment, les β-hydroxyalkyléthers de l'inuline (dérivés hydrophobes et neutres) ont été préparés par Morros*etal.***[198]** avec différentes caractéristiques moléculaires (les caractéristiques hydrophobes de l'époxyde:la longueur et la nature, et le nombre de groupements greffés par des unités de fructose) en milieu aqueux dans des conditions différentes. Ces études indiquent que, globalement, l'éthérification de l'inuline nécessite une quantité suffisante d'un catalyseur basique pour activer les groupements hydroxyles du polysaccharide. En outre, l'efficacité de la réaction augmente avec la solubilité des époxydes d'alkyle utilisés. Pour les époxydes insolubles, la réaction est limitée par l'effet hydrophobe de la chaîne alkyle. L'éthérification avec des longues chaines d'époxydes (C12 et C14) était très difficile à réaliser même dans des mélanges d'eau –isopropanol (IPA) en donnant une très faible efficacité de réaction (RE). Cependant, l'addition d'un tensioactif cationique tel que le bromure de l'hexadecyltrimethylammonium (CTAB) ou le bromure de dodecyltrimethylammonium (DTAB) a augmenté significativement le RE**[199]**.

Les dérivés éthérifiés d'inuline sont utilisés dans le domaine cosmétique et pharmaceutique en tant que supports pour les substances insolubles dans l'eau ou pour stabiliser des solutions aqueuses de composés ayant une faible solubilité dans l'eau. Ils peuvent également être utilisés comme agents émulsifiants ou additif dans les textiles et le papier, ainsi qu'adoucissants de polymères thermoplastiques**[187]**.

I.4.4. Méthylation de l'inuline

La méthylation est largement utilisée pour déterminer la structure des polysaccharides. L'application de cette méthode pour l'élucidation de la constitution de l'inuline est réalisée par Irvine et Steele**[200]**, qui ont montré que ce polysaccharide peut être converti en un dérivé de triméthyleet qui a donné, par hydrolysedes unités detriméthylfructosecomme produit essentiel.

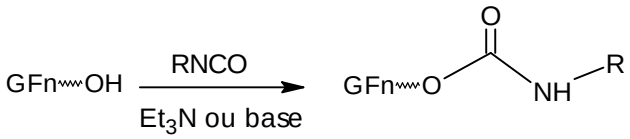
La réaction implique d'abord un traitement d'inuline avec une solution d'hydroxyde de potassium à 70°C pendant 2 jours. Après le refroidissement du mélange à 30°C, le sulfate de diméthyle est ajouté à la solution et l'inuline méthylée est obtenue avec un très bon rendement et un degré de substitution maximal de 2.5 (équation I.4, dérivé 1). Pour synthétiser une inuline entièrement méthylée, la réaction a également été réalisée en utilisant l'iodure de méthyle et l'oxyde d'argent (équation I.4, dérivé 2)**[201]**.



(I.4)

I.4.5. Synthèse des carbamates d'inuline

L'inuline peut être modifiée en carbamates en utilisant les isocyanates de méthyle avec un catalyseur basique tels qu'une amine tertiaire ou un acide de Lewis (réactionI.5). Ces carbamates peuvent être utilisés dans des applications de chromatographie liquide (pour la séparation des mélanges énantiomères) sous forme de colonnes à garnissage, des colonnes capillaires en revêtement ou sous forme de colonnes de fibres filées. Ces dérivés sontutilisés directement ou fixés sur une phase stationnaire, afin d'éviter leur gonflement et pour améliorer le nombre de plateaux théoriques. Les supports habituellement utilisés comprennent des supports organiques ou inorganiques poreux tels que le polystyrène, le polyacrylate ou la silice, l'alumine et les silicates**[202]**.

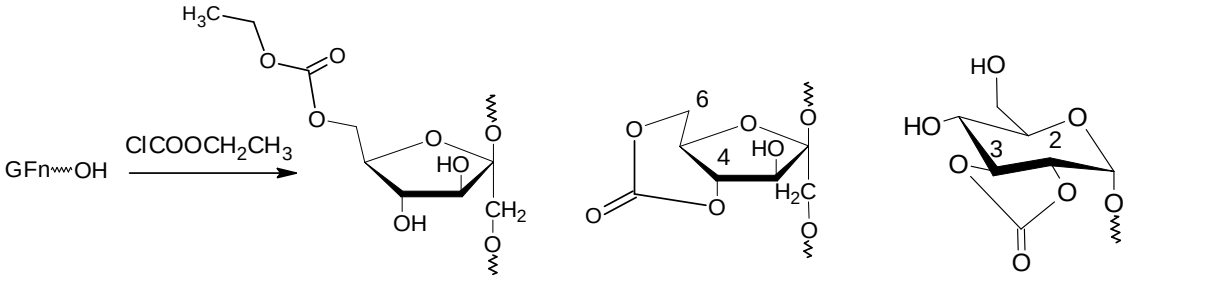


$R=CH_3$
$R=C_4H_9-C_{18}H_{37}$(I.5)

Les carbamates d'inuline sont des copolymères greffés avec des groupes alkyles (C_4H_9 à $C_{18}H_{37}$) distribués de manière aléatoire sur la chaîne principale du polyfructose. Les groupes alkyles représentent la chaîne B, qui deviennent fortement absorbée sur une surface hydrophobe telle qu'une goutte d'huile. Ces agents tensioactifs à base d'inuline sont très stables (> 1 année), à une température allant jusqu'à 50°C et à des concentrations élevées d'électrolyte. Divers carbamates d'inuline peuvent être appropriés comme agents tensio-actifs pour les applications domestiques et industrielles tels que des détergents, des émulsifiants, des stabilisants d'émulsion, stabilisants de mousse et des agents mouillants**[203,204]**.

I.4.6. Synthèse des carbonates d'inuline

Le carbonate d'inuline a été préparé par réaction d'inuline avec du chloroformiate d'éthyle dans le diméthylsulfoxyde et en présence de triéthylamine comme catalyseur (Figure I.15). Cela donne un mélange de deux produits qui absorbent dans l'infrarouge à 1750 et 1820cm^{-1} respectivement. Lepremier composé a été attribué à la présence du groupe O-éthoxycarbonyle, et le second est composé partiellement d'un groupement carbonate cyclique en position trans-2,3- sur le résidu D-glucose terminal et un groupement carbonate cyclique en position trans-4,6- sur le résidu fructofuranose de la chaîne d'inuline. Les carbonates de l'inuline ont une utilité dans l'insolubilisation des molécules biologiquement actives telles que les enzymes ou les immunoglobulines**[205]**.



O-ethoxy carbonte absorption 1750cm^{-1} | trans-4,6-cyclique carbonate absorption 1820cm^{-1} | trans-2,3-cyclique carbonat absorption 1820cm^{-1}

Figure I.15 : Mécanisme de synthèse des carbonates d'inuline

I.4.7. Couplage de l'inuline avec les acides aminés

L'intégration des acides aminés sur la chaine principale ou latérale des polymères est un autre exemple de modification chimique de polymères à usage biomédical. Étant donné que les acides aminés sont des composés naturels, les polymères à base d'acides aminés sont censés d'être non toxique, biodégradable et biocompatible.

Le couplage de l'inuline et des acides aminés a été réalisée en utilisant des acides aminés N-protégés, en présence de (diméthylamino)-pyridine (DMPA) comme catalyseur et du dicyclohexylcarbodiimide (DCC) comme agent de condensation. La réaction est effectuée dans des conditions douces et les produits de Cbz-Gly-inuline (N,N'-di-benzylocaabonyl-glycine-inuline) et Cbz-Lys-inuline (N,N'-di-benzylocaabonyl-L-lysine-inuline) ont été obtenus avec un bon rendement (67% et 72% respectivement). La deuxième étape de la réaction consiste à la déprotection du groupe amine par hydrogénation en utilisant le palladium sur du charbon actif sous forme de catalyseur et de 1,4-cyclohexadiène comme donneur d'hydrogène(Figure I.16)**[206]**.

Les dérivés obtenus sont utilisés comme matière première pour la synthèse des peptides en phase liquide et comme un agent chélatant pour les ions métalliques. Ils peuvent également être utilisés pour la fixation de divers médicaments ou des composés biologiquement actifs tels que le peptide à base d'arginine-glycine-acide aspartique.

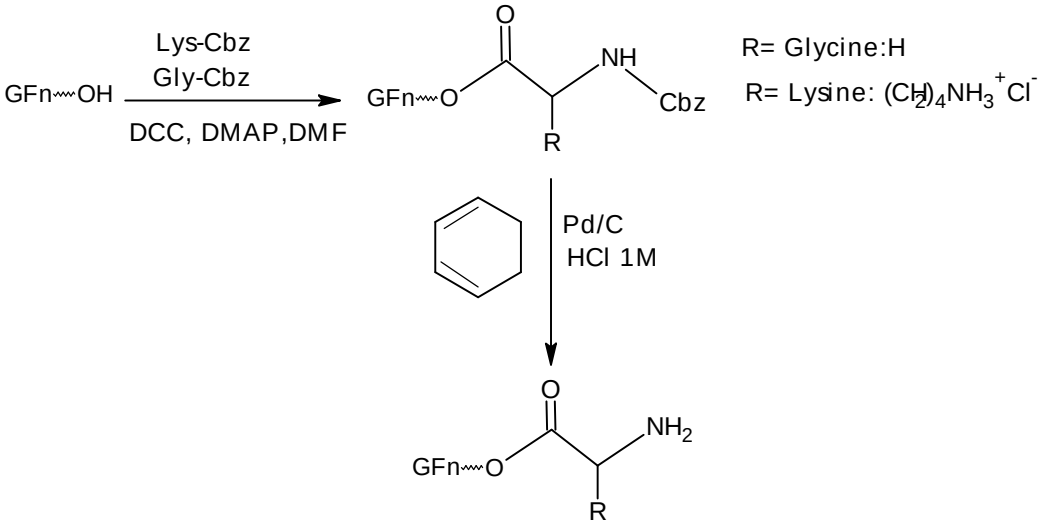
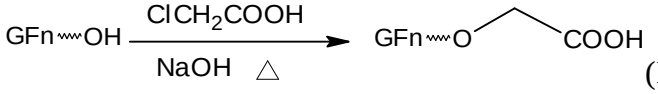


Figure I.16 : Mécanisme réactionnel de couplage des acides aminés avec l'inuline**[206]**

I.4.8. Carboxyméthylation d'inuline

La Carboxyméthylation d'un polysaccharidecomprend l'estérification des groupements alcools primaires et secondaires par des groupes carboxyméthyle. L'inuline peut être

modifiéedans une solution alcaline aqueuse par réaction avec l'acide monochloroacétique (MCA) formant le O-(carboxyméthyl) inuline (CMI, équation I.6)**[207]**. Le degré de substitution est affecté par le rapport inuline/MCA et la température de réaction. Le CMI présente une très faible viscosité en solution aqueuse et son efficacité dans la précipitation de carbonate de calcium augmente avec l'augmentation de degré de substitution (>1) et le degré de polymérisation (≥30).



(I.6)

Le CMI est un dérivé d'inuline biodégradable et possédant des propriétés inhibitrices de la cristallisation du carbonate de calcium, même à des très faibles concentrations (5-200ppm), grâce à la capacité des groupes carboxylate anioniques à s'absorber sur les surfaces cristallines**[208]**. Le CMI peut être utilisé aussi pour des modifications supplémentaires à l'aide d'une diamine et de 1-éthyl-3- (3-diméthylaminopropyl) carbodiimidehydrochloride consécutivement afin de préparer des polysaccharides stables aux alcalis.

I.4.9. Synthèse des phosphates d'inuline

Les phosphates d'inuline ont été synthétisés par réaction avec du trimétaphosphate de sodium ($Na_3P_3O_9$). La réaction donne lieu à la formation du mono- et diphosphatesrespectivement**[209]**. Les dérivés de phosphates sont également obtenus par réaction d'inuline avec l'oxychlorure de phosphore ($POCl_3$). La réaction est effectuée dans de la pyridine et conduit à la formation de monophosphate d'inuline uniquement**[210]**.

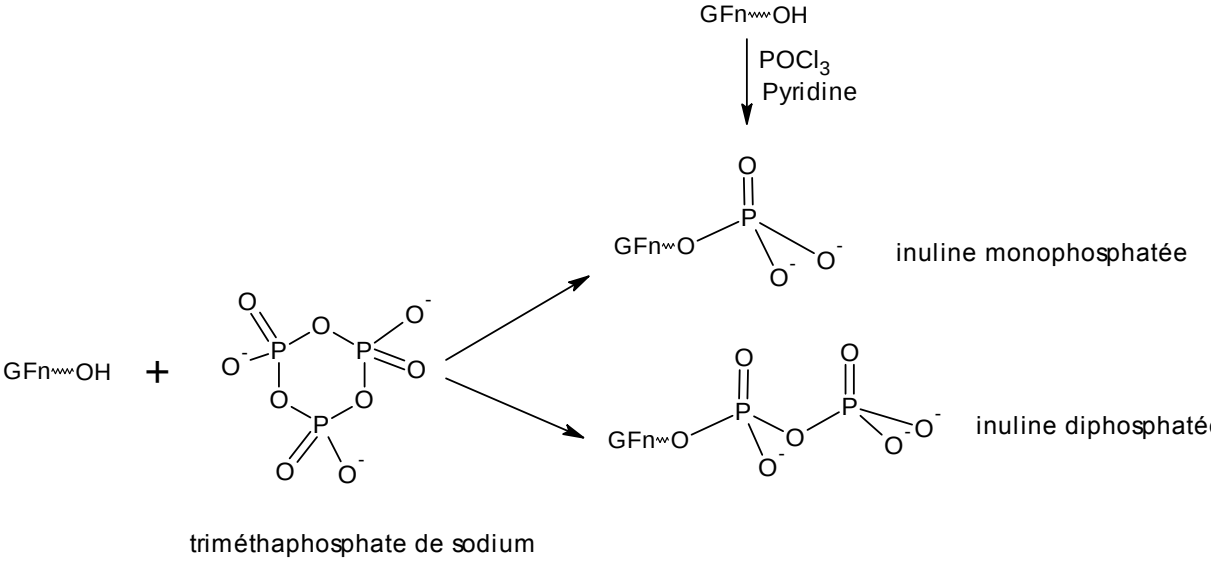


Figure I.17 : Réactions de formation des phosphates d'inuline

Les dérivés de phosphate présentent une viscosité accrue par rapport à l'inuline native, ce qui reste relativement constant même à des températures jusqu'à 60°C où ils commencent à se dissoudre. À la fois l'inuline native et ses dérivés phosphatés forment des gels thermorevesible qui sont stables à la température ambiante et fondant à une température supérieure à 60°C**[191]**.

I.4.10. Oxydation de l'inuline

L'oxydation sélective des oligo- et polysaccharides donne despolycarboxylates avec de nombreuses applications potentielles. L'oxydation glycolique de polysaccharides tels que l'amidon, la cellulose, etc., donne lieu à des polycarboxylates à cycle ouvert qui montrent une très bonne fixation du calcium. Par conséquent, ils peuvent remplacer les polymères synthétiques non biodégradables tels que le polyacrylate utilisés en tant que co-adjuvant dans des formulations des détergents. Cependant, la faible biodégradabilité des dérivés d'amidon et de cellulose due à leur poids moléculaire élevé limite leur utilisation**[191]**.

L'oxydation de l'inuline a été réalisée afin d'obtenir des produits ayant des propriétés de complexation similaires, mais avec une biodégradabilité supérieure. En particulier, l'inuline partiellement oxydée se comporte très différemment de l'amidon partiellement oxydé par rapport à la fixation des ions de calcium. La capacité de séquestration de l'amidon est améliorée à un degré d'oxydation supérieur à 40% tandis que dans le cas de l'inuline, il existe une relation linéaire entre le degré d'oxydation et la capacité de séquestration du calcium**[211]**. Plusieurs méthodes ont été étudiées pour l'oxydation dont on cite l'oxydation avec $NaIO_4/NaClO_2$, oxydation avec l'hypochlorite de sodium, platinium ou TEMPO.

I.4.10.1. Oxydation avec $NaIO_4/NaClO_2$

L'oxydation directe des groupes hydroxyle d'inuline permet l'introduction éventuelle de groupes carbonyle et carboxyle, modifiant ainsi les propriétés de polysaccharide et offrant des applications commerciales supplémentaires des dérivés obtenus.

L'Oxydation de l'inuline avec $NaIO_4/NaClO_2$ peut être réalisée dans une réaction en deux étapes en utilisant du periodate de sodium ($NaIO_4$) dans la première étape pour former un dialdéhyde d'inuline et du chlorure de sodium ($NaClO_2$) ou le chlorure de sodium avec du peroxyde d'hydrogène dans la seconde (Figure I.18). En raison de la formation de composés stables hémiacétal dans la première étape de réaction, les produits finaux présentaient initialement une faible capacité de fixation du calcium**[211]**.

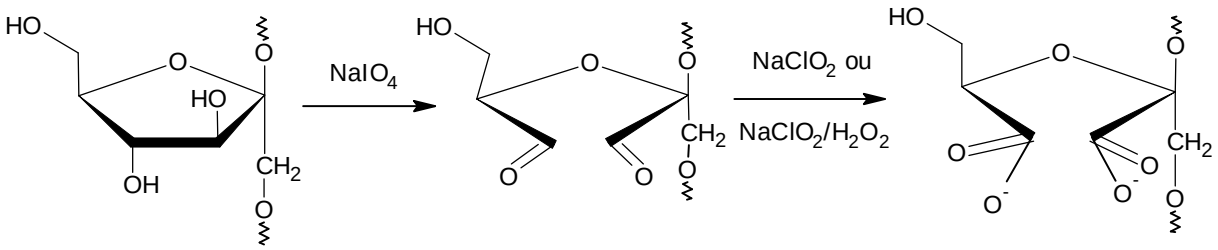
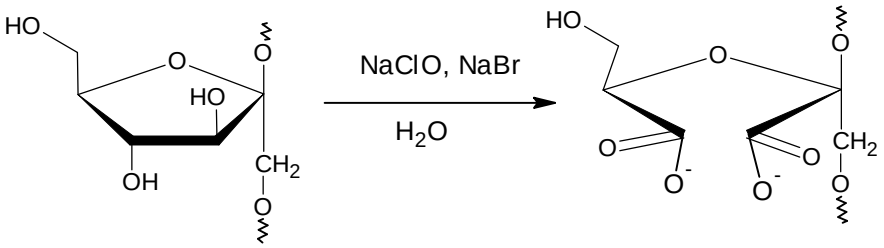


Figure I.18 : Mécanisme réactionnel de l'oxydation d'inuline**[191]**

I.4.10.2. Oxydation avec l'hypochlorite de Sodium

L'inuline peut également être oxydée dans de l'hypochlorite de sodium en utilisant une réaction en une seule étape (NaOCl) en présence de bromure de sodium (NaBr), afin d'améliorer la vitesse de réaction (réaction I.7). L'effet catalytique de bromure est expliqué par la formation d'un agent oxydant plus actif (hypobromiteNaBrO) lors de l'oxydation à l'hypochlorite (réaction I.8)**[212,213]**.



(I.7)

$$NaClO + NaBr \rightarrow NaBrO + NaCl \qquad \text{(I.8)}$$

Les meilleurs résultats ont été obtenus en ajoutant l'oxydant à des quantités précises et la mise en oeuvre de l'oxydation à un pH supérieur à 10. Ces conditions sont importantes, afin d'éviter la dismutation de l'hypochlorite à un pH de 7 (réaction I.9) et l'hypobromite à un pH 9 (réaction I.10). En raison de l'hydrolyse de l'inuline, la réaction n'a pas pu être réalisée à un pH inférieur à 7.

$$3NaClO \rightarrow NaClO_3 + 2NaCl \qquad pH < 7 \quad \text{(I.9)}$$

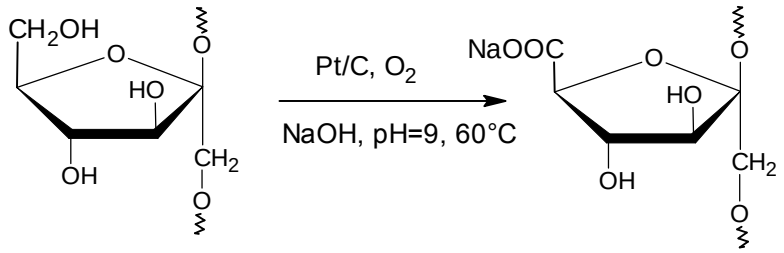
$$3NaBrO \rightarrow NaBrO_3 + 2NaBr \qquad pH < 9 \quad \text{(I.10)}$$

Les dérivés sont isolés avec un très bon rendement (80-95%). En faisant varier la quantité d'hypochlorite de sodium, il est possible d'obtenir des produits ayant un degré d'oxydation différent, qui peut être facilement déterminé par titrage avec l'hydroxyde de sodium. Les carboxylates d'inuline obtenues par cette procédure possèdent une excellente capacité de

fixation des carbonates de calcium (2 à 2.5mmol de Ca/g). Cette capacité de fixation est similaire à celle des adjuvants commerciaux et meilleure que la capacité des dérivés préparés à partir de l'amidon**[191]**.

I.4.10.3. Oxydation avec le Platinium (Pt)

Le platinium (catalyseur) et l'oxygène moléculaire (oxydant) ont été utilisés pour oxyder sélectivement les carbohydrates tels que le saccharose. L'inuline est aisément oxydée en utilisant ces deux réactifs, en présence d'hydroxyde de sodium (réaction I.11). L'oxydation se produit de façon sélective à la position C-6 avec un rendement relativement élevé (79%)**[214]**. Le poids moléculaire de l'inuline influe sur la vitesse de réaction et le degré d'oxydation. Ce dernier diminué avec l'augmentation de DP, selon cette étude, le nystose (GF3) possède un degré d'oxydation de 40% tandis qu'il est de 28 et 20% pour les inulines ayant un DP moyen de 10 et 30, respectivement. En outre, la quantité de sous-produits augmente avec l'augmentation de la longueur de chaîne et le degré d'oxydation.



(I.11)

I.4.10.4. Oxydation avec TEMPO

L'inuline a été oxydée en utilisant le 2,2,6,6-tétraméthyl-1-pipéridinyloxy (TEMPO) en tant que catalyseur qui peut être oxydé par un hypobromite ou un réactif similaire pour donner les ions de nitrosonium. La sélectivité de l'oxydation des groupes hydroxyl primaires par rapport aux groupes hydroxyl secondaires est bonne ce qui rend le TEMPO très approprié à utiliser dans la chimie des carbohydrates. Cependant, l'oxydation des groupes hydroxyl primaires est suivie d'une oxydation supplémentaire en position C-4 et C-6, qui peut conduire à une dégradation de la molécule. Par conséquent, la réaction doit être désactivée après l'ajout de 1mmoled'hydroxyde de sodium par millimole de fructose anhydre, afin de maintenir la sélectivité supérieure à 90%**[215,216]**. Le pH de réaction préféré est de 9.5, cependant, à un pH de 10.5; le 6-carboxy-inuline est formé avec un bon rendement (82%)**[217]**.

I.4.11. Modification cationique de l'inuline

En raison des propriétés intéressantes des polysaccharides chargés positivement, les modifications cationiques de l'inuline ont été également étudiées. Les dérivés cationiques d'inuline contiennent normalement un groupe d'azote, qui peut être un groupe ammonium quaternaire ou une amine primaire, secondaire ou tertiaire (chargé positivement dans un milieu acide).

Plusieurs dérivés de l'inuline ont été préparés, en appliquant plusieurs réactifs tel que le N,N,N-tris(2-chloroéthyl) amine, le N,N,N-tris(3-chloro-2-hydroxypropyl) amine, le trialkylammoniumethyl-2-chloro-ethyl ether, lesaziridines substituées, le 2-dialkylamino-3-halogéno-propionamide, l'acide 2-dialkylamino-3-halopropionique, le chlorure de 3-chloro-2-hydroxypropyltriethylammonium, le 2-chloropropyldimethylamine, le N-(2-chloroéthyl)-morpholine, le bromure de 3-bromopropyl-triméthylammonium, le chloroethyldiethylamine et le 4-chloro-1-méthyl-pipéridineErreur ! Signet non défini..

Les inulines modifiées (par exemple hydroxyalkylés, carboxyméthylés, oxydés) peuvent également être soumises à une modification cationique pour donner des composés ayant une meilleure solubilité, une faible viscosité et de meilleures propriétés de dégradation que les composés similaires provenant d'autres polysaccharides. De tels produits ont une utilité potentielle en tant que désinfectants, des conditionneurs capillaires, des gels de moulage, flocullants, des inhibiteurs de corrosion, des additifs aux textiles et des adhésifs**[187]**.

I.4.12. Réticulation de l'inuline

L'inuline de haut poids moléculaire forme des gels dans des conditions appropriées, cependant, pour certaines applications (par exemple la délivrance de médicaments), il est souhaitable d'augmenter la stabilité du gel à travers la formation de réticulations covalentes entre les molécules voisines.

L'étape initiale dans la réticulation implique une méthacrylation de l'inuline en utilisant du méthacrylate de glycidyle en présence de (diméthylamino) pyridine comme catalyseur. La méthacrylation de l'inuline se produit au niveau du carbone C-6 avec un degré de substitution allant de 4à 22, ce qui représente environ 72 à 89% dudegré de substitution théorique. La polymérisation radicalaire libre est alors initiée à l'aide de persulfate d'ammonium ou le N,N,N',N'-tétraméthylènediamine, qui convertit les doubles liaisons en liaisons covalentes. La rigidité et la biodégradabilité de l'hydrogel sont liées à sa concentration dans la solution initiale et le degré de substitution. De tels gels permettent l'encapsulationdes médicaments qui ciblent le côlon, où le gel se dégrade, en libérant le principe actif**[219,220]**.

I.4.13. Greffage des molécules antioxydantes

Le greffage moléculaire est un procédé bien connu pour développer des matériaux ayant une structure chimique et physique particulière; cette stratégie de synthèse permet aux propriétés des polymères naturels et synthétiques à être améliorées, en leur donnant de nouvelles caractéristiques pour des applications spécifiques**[221]**. La possibilité de greffer des molécules antioxydantes dans une structure de polysaccharide, par une procédure radicale, représente une innovation intéressante qui pourrait améliorer considérablement les performances des macromolécules biologiques, ouvrant de nouvelles applications dans les domaines biomédical et pharmaceutique. Les polymères antioxydant sont une classe particulière de systèmes caractérisés par une plus grande stabilité et un faible taux de dégradation par rapport aux composés à faible poids moléculaire, et ils pourraient être appliqués dans les domaines dans lesquels l'emploi d'une seule molécule avec une activité antioxydante est prohibitif**[222]**.

Le greffage moléculaire est un procédé mettant en jeu des réactions nécessitant un composé réducteur comme initiateur, par exemple, le persulfate de potassium, le nitrate d'ammoniumcérique et le persulfate d'ammonium, qui génèrent des radicaux libres après chauffage à 40°C**[223]**. De nos jours, des nouvelles techniques ont été développées qui permettent le greffage de molécules simples sur les biopolymères en une seule étape à la température ambiante et sans la production de sous-produits toxiques. Kitagawa et Tokiwa**[224]** ont évalué la polymérisation des esters des polysaccharides à l'aide de l'acide ascorbique (AAs, 10mM) et du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2, 7mM) comme agents d'oxydation. Cette méthode a également été appliquée avec succès par Curcio*et al*.**[225]**, Spizzirri *et al*.**[223,226]**etCirillo*et al*.**[227]**sur le chitosane, la gélatine et l'inuline pour avoir des dérivés greffés.

Récemment, le conjugué catchine-inuline a été synthétisé par la procédure de greffage avec les radicaux libres en utilisant le couple redox acide ascorbique/peroxyde d'hydrogène comme système initiateur biocompatible et soluble dans l'eau**[228]**. La stratégie de synthèse est impliquée dans deux étapes, la première a permis d'activer les chaînes polysaccharidiques avec la réaction radicalaire, et la seconde a permis de lier les molécules antioxydantes avec la macromolécule radicalaire préformée par une liaison covalente (Figure I.19). La greffe a eu lieu entre les groupements –OH d'inuline (C-6) et H–6/H–8 de catéchine (un cycle). En outre, le copolymère catéchine-inuline montre une grande stabilité thermique et une bonne solubilité dans l'eau par rapport à l'inuline.

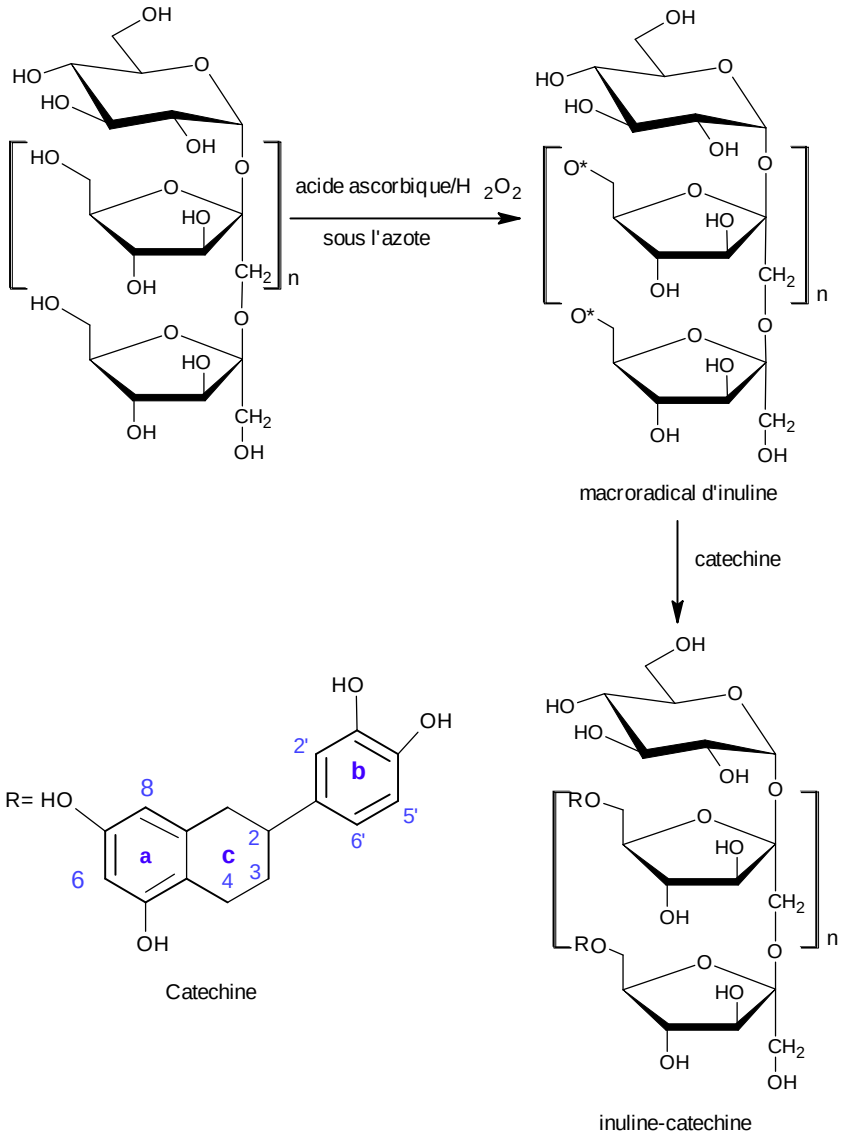


Figure I.19 : Mécanisme de synthèse de Catechin-inuline en utilisant le système rédox Acide ascorbique/H_2O_2**[228]**

I.5. Applications des dérivés d'inuline

Ces dernières années, l'intérêt de l'inuline a été concentré sur sa modification chimique afin d'obtenir des systèmes adaptés à des fins diverses tels que des tensioactifs, des complexes avec des minéraux, des microsphères et des hydrogels. Le Tableau I. 4présente quelques applications des dérivés d'inuline.

Tableau I. 4: Résumé de quelques applications des dérivés d'inuline.

Applications	Dérivés d'inuline	Réaction de modification	Réf.
Stabilisation des émulsions	UNITEC-SP1 (lauryl-carbamated'inuline.	Synthèse des carbamates	**[204], [229-232]**
	0.5HMI, 2HMI, 3HMI (HMI : inuline modifiée hydrophopiquement)	Greffage des molécules de dodecyl de différentes longueurs	**[233]**
	InEC8, InEC12 et InEC14	Etherification	**[234]**
	In-OSA, In-DDSA (des esters d'octenyl et de dodecenylsuccinique d'inuline)	Estérification	**[235,236]**
	Hydroxyalkylesethers d'inuline	Etherification	**[198],[199]**
Formation des hydrogels	Inuline méthacrylate (INUMA)	Esterification	**[237-239]**
	INU-MA-SA (inuline méthacryléesuccinylée)	Esterification	**[240,241]**
	Inu-Lac (inuline –lactoside)	/	**[242]**
	Catechine-inuline	Estérification	**[226]**
Formation des microsphères Et encapsulation des médicaments	InAc (Acétate d'inuline)	Etherification	**[243]**
	CMI (carboxymethyleinuline)	carboxyméthylation	**[244]**
	AIn (inuline acétylée)	Estérification	**[245]**
	Acide polyacrylique greffé sur l'inuline	/	**[158]**
	INCN (dérivé cinnamoylaté d'inuline)	Estérification	**[246]**
Autres applications dans le domaine pharmaceutique	Dérivée 5-FASA-inuline (5-formyl aminosalycilate- inuline), traitement des maladies des intestins	Estérification	**[247]**
	INVIT (inuline- vitamine E), le traitement des infections urinaires	Estérification	**[248]**
	INU-SA (inuline carboxylée) INU-SA-cys (inuline carbyxyléethiosylée). Le traitement de l'anémie (type carence en fer) par complexation avec le fer	Estérification	**[249]**
Floculant dans le traitement des effluents liquides	In-g-PAM (inuline greffé avec le polyacrylamide).	/	**[250]**
	CMI (carboxyméthyle inuline).	carboxyméthylation	**[251]**

I.6. Conclusion

Actuellement, il y a une demande croissance pour les polymères biodégradables et biocompatibles pour de nombreuses applications notamment, pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire.

Nous avons présenté dans ce chapitre le polysaccharide qui fait l'objet de cette étude et qui est l'inuline. Nous avons décrit les méthodes d'extraction d'inuline notamment à l'échelle industrielle. On a exploré aussi les différentes voies de modification chimique de ce biopolymère et l'utilisation de quelques dérivés obtenus. Les utilisations de l'inuline dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire sont très diverses et la recherche est toujours en cours, en particulier avec les inulines chimiquement modifiées.

Références bibliographiques

[1]Ritsema, T., Smeekens, S.C.M., "Engineering fructan metabolism in plants", Journal of plant Physiology, 160 (2003) 811-820.

[2]Vereyken, I.J., Chupin, V., Demel, R.A., Smeekens, S.C.M., De Kruijff, B., "Fructans insert between the headgroups of phospholipids", BiochimBiophysActa, 1510 (2001)307-320.

[3]Apolinário, A.C., de Lima Damasceno, B.P.G., de MacêdoBeltrão, N.E., Pessoa, A., Converti, A., da Silva, J.A., "Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology", Carbohydrate Polymers, 101(2014) 368–378.

[4]Frank, A., "Technological functionality of inulin and oligofructose", British Journal of Nutrition, 87(2002) S287-S291.

[5]Hendry, G.A.F., "Evolutionary origins and natural functions of fructans: a climatological, ciogeography and mechanistic appraisal", New Phytologist, 123(1993) 3-14.

[6]Martinez-Fleites, C., Ortiz-lombardia, M., Pons, T., Tarbouriech, N., Taylor, E.J., Arrieta, J.G., Hernandez, L., Davies, G.J., "Crystal structure of levansucrase from the Gram-negative bacterium *Gluconacetobacterdiazotropicus*", Biochemistry Journal, 390(2005) 19-27.

[7]Valluru, R., Van den Ende, W., "Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects", Journal of Experimental Botany, 59(2008) 2905-2916.

[8]Watts, K., Pollitt, C., "Equine Laminitis - Managing pasture to reduce the risk", Rural Industries Research and Development Corporation RIRDC, Publication No.10/063(2010) 3-70.

[9]Vijn, I., Smeekens, S., "Fructan: More than a reserve carbohydrate?", Plant Physiology, 120(1999) 351-360.

[10]Raccuia, S.A., Melilli, M.G., "Seasonal dynamics of biomass, inulin, and water-soluble sugars in root of *Cynaracardunculus L.*", Field Crops Research, 116(2010) 147-153.

[11]Pollock, C.J., "Fructans and the metabolism 01: sucrose in vascular plants", New Phytologist, 104(1986) 1-24.

[12]Levitt, J., "Responses of plants to environmental stresses, Vol. I, Chilling, freezing, and high temperature stresses", (1980), 2nd ed. Orlando, FL: Academic Press.

[13]Timmermans J.W., deWit, D., Tournois, H., Leeflang, B.R., Vliegenthart, J.F.G., "MD calculations on nystose combined with NMR spectroscopy on inulin related oligosaccharides", Journal of Carbohydrate Chimestry, 12 (1993) 969-979.

[14]Damian, F., Guy Van Den, M., Celest, S., Renaat, K., "In vitro biodegradation study of acetyl and methyl inulins by Bifidobacteria and inulinase", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 47(1999) 275-282.

[15] López-Molina, D., Navarro-Martínez, M.D., Melgarejo, F.R., Hiner, A.N.P., Chazarra, S., Rodríguez-López, J.N., "Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*CynaraScolymus L.*)",Phytochemistry, 66(2005) 1476-1484.

[16]Femia, A.P., Luceri, C., Dolara, P., Giannini, A., Biggeri, A., Salvadori, M., Clune, Y., Collins, K.J., Paglierani, M., Caderni, G., "Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacteriumlactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats", Carcinogenesis, 11(2002) 1953-1960.

[17]Ronkart, S.N., Blecker, C.S, Fourmanoir, H., Fougnies, C, Deroanne, C., Van Herck, J.C, Paquot, M., "Isolation and identification of inulooligosaccharides resulting from inulin hydrolysis", AnalyticaChimicaActa, 604(2007) 81-87.

[18]Roberfroid, M.B., "Inulin-type fructans: functional food ingredients", Journal of Nutrition, 137 (2007)2493S-2502S.

[19]Greg Kelly, N.D., "Inulin-type prebiotics- A review: Part 1", Alternative Medicine Review, 13(2008) 315-329.

[20]Roberfroid, M.B., "Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract", Nutrition, 16(2000)677-679.

[21]Niness, K.R., "Inulin and oligofructose: what are they?", Journal of Nutrition, 129 (1999) 1402S-1406S.

[22]Matías, J., González, J., Royano, L., Barrena, R.A., "Analysis of sugars by liquid chromatography-mass spectrometry in jerusalem artichoke tubers for bioethanol production optimization", Biomass and Bioenergy, 35(2011) 2006-2012.

[23]Judprasong, K., Tanjor, S., Puwastien, P., Sungpuag, P., "Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans", Journal of Food Composition and Analysis, 24(2011) 642-649.

[24]Ganaie, M.A., Pathak, L.K., Gupta, U.S.,"Production of Fructoligsaccharides by *AureobasidiumPullulans* Using Immobilization Technique", Journal of Food Technology, 9(2011) 91-94.

[25]Levine, H., Slade, L., "Principles of « cryostabilization » technology from structure/property relationships of carbohydrate/water systems a review", Cryoletters, 9(1988) 21-63.

[26]Kawai, K., Fukami, K., Thanatuksorn, P., Viriyarattanasak, C., Kijiwara, K., "Effects of moisture content, molecular weight, and crystallinity on the glass transition temperature of inulin", Carbohydrate Polymers, 3 (2011) 934-939.

[27]André, I., Putaux, J.L., Chanzy, H., Taravel, F.R., Timmermans, J.W., de Wit, D. "Single crystals of inulin", International journal of Biological Macromolecules, 18 (1996) 195-204.

[28]André, I., Mazeau, K., Tvaroska, I., Putaux, J.L., Winter, W.T., Taravel, F.R., Chanzy, H., "Molecular and crystal structures of inulin from electron diffraction data", Macromolecules, 29 (1996) 4626-4635.

[29]Ronkart, S., Blecker, C., Fougnies, C., Van Herck, J.C., Wouters, J., Paquot, M., "Determination of physical changes of inulin related to sorption isotherms: An X-ray diffraction, modulated differential scanning calorimetry and environmental scanning electron microscopy study", Carbohydrate Polymer, 63 (2006) 210-217.

[30]Ronkart, S.N., Paquot, M., Fougnies, C., Deroanne, C., Blecker, C.S., "Effect of water uptake on amorphous inulin properties", Food Hydrocolloid, 23(2009) 922-927.

[31]Cooper, P.D., Barclay, T.G., Ginic-Markovic, M., Gerson, A.R, Petrovsky, N., "Inulin isoforms differ by repeated addition of one crystal unit cell", Carbohydrate polymers, 103(2014) 392-397.

[32]Cooper, P.D., Rajapaksha, K.H., Barclay, T.G., Ginic-Markovic, M., Gerson, A.R., Petrovsky, N., "Inulin crystal initiation via a glucose-fructose cross-link of adjacent polymer chains: Atomic force microscopy and static molecular modelling", Carbohydrate Polymers, 117(2015) 964-972.

[33]Leroy, G., Grongnet, G.F., Mabeau, S., Corre, D.L., Julian, S.B, "Change in inulin and soluble sugar concentration in artichoke (Cynarascolymus L.) During Storage",Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(2010) 1203–1209.

[34]Braz de Oliveira, A.J., CorreiaGoncalves, R.A., CantuariaChierrito, T.P., dos Santos, M.M., de Souza, L.M., James Gorin, P.A., LanziSassaki, G., Lacomini, M., "Structure

and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni", Food Chemistry, 129(2011) 305-3011.

[35]Milani, E., Koocheki, A., Golimovahhed, Q.A., "Extraction of inulin from Burdock root (Actium lappa) using high intensity ultrasound", International Journal of Food Science and Technology, 46 (2011) 1699-1704.

[36]Van Loo, J., Coussement, P., de Leenheer, L., Hoebregs, H., Smits, G.,"On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 35(1995) 535-552.

[37]Franck, A., De Leenheer, L., "Inulin in Biopolymers Online", Wiley-VCH Verlag GmbH &Co.KGaA, (2005), pp439-448.

[38]Meyer, W.J.M., Matthysen, E.W.J.M., Borm, G.E.L., "Crop characteristics and inulin production of Jerusalem artichoke and chicory", Inulin and Inulin-containing Crops, Studies in Plant Science, 3rd ed., (A. Fuchs ed.), Elsevier Science Publishers, (1993),pp29-38.

[39]Doré, C., Varoquaux, F., "Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées", INRA-Quae, (2006), pp 219-224.

[40]Perin, L., "Chicory in Medicine", Revue de Pathologie Générale et de Physiologie Clinique, 64(1964) 209-210.

[41]Mulabagal, V., Wang, H, Ngouajio, M, Nair, M.G, "Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (Cichoriumintybus) varieties", European Food Research and Technology, 230(2009) 47-53.

[42]Kidane, A, Parissi, Z.M, Houdjik, J.G.M, Athanasiadou, S, Tolkamp, B.J, Kyriazakis, I., "Chicory as promissing bioactive forage for sheep production, Altenative functions of graaland". In: Proceeding of the 15th European Grassland Federation Symposium, Brno, Czech Republic, 7-9 September(2009)394-397.

[43]Baert, J.R.A., Bochstaele, E.J.V., "Cultivation and breeding of root chicory for inulin production", Industriel Crops Products, 1(1993) 229-234.

[44]Nishimura, M., Ohkawara, T, Kanayama, T., Kitagawa, K., Nishimura, H., Nishihira, J., "Effects of the extract from roasted chicory (Cichoriumintybus L.)root containing inulin-type fructans on blood glucose, lipid metabolism, and fecal properties", Journal of Traditional and Complementary Medicine, 5(2015) 161-167.

[45]Frank, A., "Inulin In Food polysaccharides and theirs applications", CRC, Taylor & Francis Group LLC, 2nd Edition, (2006), pp335-349.

[46]Ujor, V., Bharathidasan, A.K., Michel Jr., F.C., Ezeji, T.C., Cornish, K., "Butanol production from inulin-fich chicory and *Taraxacumkok-saghyz* extracts: Determination of sugar utilization profile of *Clostridium saccharobutylicum* P262", Industrial Crops and Products, 76(2015) 739-748.

[47]http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F(Dernière consultation: Novembre 2016).

[48]Bach, V., Clausen, M.R., Edelenbos, M., "Chapter 12: Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus teberosus* L.) and impact on inulin and phenolic compounds in Processing and Impact on Active Components in Food", Elsevier, Academic Press, (2015), pp97-102.

[49]Yang, L., He, Q.S., Corscadden, K., Udenigwe, C.C., "The perspects of Jerusalem artichoke in functionnal food ingredients and bioenergy production", Biotechnology Reports, 5(2015) 77-88.

[50]Niu, L., Manxia, C., Xiumei, G., Xiaohua, L., Hongbo, S., Zhaopu, L, Zed, R., "Carbon sequestration and Jerusalem artichoke biomass biomass under nitrogen applications in coastal saline zone in the northern region of jiangsu, China", Science of the Total Environment, (2016).

[51]Song, Y., Gon Wi, S., Kim, H.M., Bae, H-J., "Cellulosic bioethanol production from jerusalem artichoke (*Helianthus teberosus* L.) using hydrogen peroxide-acetic acid (HPAC) pretreatment", Bioresource Technology, (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.bioterch.2016.04.065

[52]Long, X.H, Zhao, J., Liu, Z.P., Rengel, Z., Liu, L., Shao, H.B., Tao, Y., "Applying geostatistics to determine the soil quality improvement by jerusalem artichoke in coastal saline zone", Ecological Engineering**,** 70(2014) 319–326.

[53]Shao, T., Li, L., Wu, Y., Chen, M., Long, X., Shao, H., Liu, Z., Rengel, Z., "Balance between salt stress and endogenous hormones influence dry matter accumulation in Jerusalem artichoke", Science of the Total Environment, (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.076

[54]Li, W., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Gu, G., Guo, Z., "Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from *Jerusalem artichoke*", Carbohydrate Polymers, 121(2015)315-319.

[55]Saengthongpinit, W., Sajjaanantakul, T., "Influence of the harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) tubers", Postharvest Biology and Technology, 37(2005) 93-100.

[56] Haber, E.S., Gaessler, W.G., Hixon, R.M., "Levulose from chicory, dahlia and artichokes", Iowa State College of Journal of Science, 16(1941) 291.

[57]Moerman, F.T., Van Leeuwen, M.B., Delcour, J.A. "Enrichment of higher molecular weight fractions in inulin". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(2004) 3780–3783.

[58]Kosasih, W., Pudjiraharti, S., Ratnaningrum, D., Priatni, S., "Preparation of inulin from Dahlia Tubers, international Symposium on Applied Chemistry", Procedia Chemistry, 16(2015) 190-194.

[59]Zubaidah, E., Akhadiana, W., "Comparative study of inulin extraction from Dahlia, Yam, and Gembili tubers as prebiotic", Food and Nutrition Science, 4(2013) 8-12.

[60]Shimizu-Yumoto, H., Ichimura, K., "Postharvest characteristics of cut dahlia flowers with a focus on ethylene and effectiveness of 6-benzylaminopurine treatments in extending vase life", Postharvest Biology and Technology, 86(2013) 479-486.

[61]Heyer, A.G., Wendenburg, R., "Gene clonning and functional characterization by heterologous expression of the fructosyltransferase of *Asperagillussydowi* IAM 2544", Applied and Environmental Microbiology, 67(2001) 363-370.

[62]deGennaro, S., Birch, G.G., Parke, S.A, Stancher, B., "Studies on the physicochemical properties of inulin and inulin oligomers", Food Chemistry, 68(2000) 179-183.

[63]Schaller-Povolny, L.A., Smith, D.E., Labuza, T.P., "Effect of water content and molecular weight on the moisture isotherms and glass transition properties of inulin", International Journal of Food Properties, 3(2000)173-192.

[64]Blecker, C., Fougnies, J.C., Van Herck, J.P, Chevalier, J.P, Paquot, M, "Kinetic study of the acid hydrolysis of various oligofructose samples", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(2002) 1602-1607.

[65]Ronkart, S.N., Paquot, M., Deroanne, C., Fougnies, C., Besbes, S., Blecker, C.S., "Development of gelling properties of inulin by microfluidization", Food hydrocolloids, 24(2010) 318-324.

[66]Ronkart, S.N, Deroanne, C., Paquot, M., Fougnies, C., Lambrechts, J.C., Blecker, C.S., "Characterization of the physical state of spray-dried inulin", Food Biophysics, 2(2007) 83-92.

[67]Petkova, N., Ognyanov, M., Todorova, M., Denev, P., "Ultrasound-assisted extraction and characterization of inulin-type fructan from roots of elcampane (*Inulahelenium* L.)", ActaScientificaNaturalis, 1(2015) 225-235.

[68]McLaughlin, H.P., Mtherway, M.O., Lakshminarayanan, B., Stanton, C., Ross, R.P., Brulc, J., Menon, R., O'Toole, P.W., van Sinderen, D., "Carbohydrate catabolic diversity of bifidobacteria and lactobacilli of human origin", International Journal of Food Microbiology, 203(2015) 109-121.

[69]Rawat, H.K., Ganaie, M.A., Kango, N., "Production of inulinase, fructosyltransferase and sucrase from fungi on low-value inulin rich substrates and their use in generation of fructose and fructo-oligosaccharides", Antonie Van Leeuwenhoek, 107(2015) 799-811.

[70]Sarchami, T., Rehmann, L., "Optimizing enzymatic hydrilysis of inulin from Jerusalem artichoke tubers for fermentative butanol production", Biomass and bioenergy, 69(2014) 175-182.

[71]Livingston, D.P., Hincha, D.K., Heyer, A.G, "Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants", Cellular and Molecular Life Sciences, 66(2009) 2007- 2023.

[72]Boeckner, L.S., Schnepf, M.I., Tungland, B.C., "Inulin: A review of nutritional and health implications", Advances in food and nutrition research, 43(2001) 1-63.

[73]Waleckx, E., "Contribution à l'amélioration du procédé d'élaboration de la Tequila par l'utilisation d'enzymes", Thèse de doctorat, Ecole Doctorale : Sciences Écologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingéniries, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse INSA, (2007).

[74]Edelman, J., Jefford, T.G., "The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus L.*", New Phytologist, 67(1968) 517-531.

[75]Edelman, J., Dickerson, A.G., "The metabolism of fructose polymers in plants, The Biochemical Journal, 98(1966) 787-794.

[76]VanLaere, A., Van den Ende, W., "Inulin metabolism in dicots: Chicory as a model system", Plant Cell and Envirinment, 25(2002) 803-813.

[77]Koops, A.J., Jonker, H.H, "Purification and characterization of the enzymes of fructan biosynthesis in tubers of *Helianthus tuberosus*Colombia.II. Purification of sucrose: sucrose 1-fructosyltransferase and reconstitution of fructan synthesis in vitro with purified sucrose: sucrose 1fructosyltransferase and fructan: fructan 1-fructosyltransferase", Plant Physiologist, 110(1996) 1167-1175.

[78]Van den Ende, W., Van Laere, A., "De-novo synthesis of fructans from sucrose in vitro by a combination of two purified enzymes (sucrose: sucrose 1-fructosyltransferase and ructan: fructan 1-fructosyltransferase) from chicory roots (*Cichoriumintybus* L.)", Planta, 200(1996) 335-342.

[79]Warnot, F., "Recherche de marqueurs glucidiques et protéiques lies au stade de maturité de la racine de chicorée industrielle", Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille, (1997).

[80]Frehner, M., Keller, F., Wiemken, A., "Localization of fructan metabolism in the vacuoles isolated from protoplasts of jeusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.)", Journal of Plant physiologist, 116(1984) 197-208.

[81]Edelman, J., Jefford, T.G., "The metabolism of fructose polymers in plants.4. β-fructofuranosidases of tubers of *Hilianthustuberosus* L.", Biochemical Journal, 93(1964) 148-161.

[82]El Yachioui, M., "Production et étude d'une β-fructofuranosidase bactérienne", Thèse de doctorat en Biologie et Physiologie Végétales, Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois, (1986), № 60.

[83]Rehm, J., Willmitzer, L., Heyer, A.G., "Production of 1-kestose in transgenic yeast expressing a fructosyltransferase from AspergillusFoetidus", Journal of bacteriology, 180 (1998) 1305-1310.

[84]Corradini, C., Bianchi, F., Mateuzzi, D., Amoretti, A., Rossi, M., Zanoni, S., "High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and capillary zone electrophoresis with indirect ultr violet detection as powerful tools to evaluate prebiotic properties of fructooligosaccharides and inulin", Journal of Chromatography A, 1054 (2004)165-173.

[85]Bosscher, D., Van Loo, J., Franck, A., "Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization", International Dairy Journal, 16(2006) 1092-1097.

[86]Chi, Z.M., Zhang, T., Cao, T.S., Liu, X.Y., Cui, W., Zhao, C.H., "Biotechnological potential of inulin for bioprocesses", Bioresource Technology, 102(2011)4295-4303.

[87]Meyer, D., "Chapter 30: Inulin in Handbook of hydrocolloids", CRC Press, WoodheadPubliching Limited, 2nd Edition, (2009), pp829-848.

[88]Silva, R.F., "Use of inulin as a natural texture modifier", Cereal Foods World, 41(1996) 792-794.

[89]Kim, Y., Faqih, M.N., Wang, S.S., "Factors affecting gel formation of inulin", Carbohydrate Polymers, 46(2001) 135-145.

[90] Wada, T., Sugatani, E., Terada, M., Ohguchi, M., Miwa, M., "Physicochemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(2005) 1246-1253.

[91]Atia, A., "Développement d'une matrice prébiotique pour l'encapsulation des probiotiquesbactériocinogènes, destinée à l'alimentation animale. De la physicochimie à la biopharmacie", Thèse de doctorat en Science et Technologie des aliments, Université de Laval, (2016).

[92]Dan, A., Ghosh, S., Moulik, S.P., "Physicochemical studies on the biopolymer inulin: A critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water and thermal stability", Biopolymers, 91 (2009) 687-699.

[93]LeiteToneli, J.T.C., Park, K.J., Ramalho, J.R.P., Murr, F.E.X., Fabbro, I.M.D., "Rheological characterization of chicory root (*Cichoriumintybus* L.)inulin solution", Brazilian Journal of Chemical Engineering, 25(2008) 461-471.

[94]Dey, P.C., Motin, M.A., Biswas, T.K., Huque, E.M., "Apparent molar volume and viscosity studies on some carbohydrates in solutions", MonatshefteFürChemie, 134(2003) 797-809.

[95]Bot, A., Erle, U., Vreeker, R., Agterof, W.G.M., "Influence of crystallization conditions on the large deformation rheology of inulin gels". Food Hydrocolloids, 18(2004) 547-556.

[96]Zimeri, J.E., Kokini, J.L., "Rheological properties of inulin-waxy maize starch systems". Carbohydrate Polymers, 52(2003) 67-85.

[97]Nogueira, R.I., "Processoddeobtenção de inulina de chicória (Cichoriumintybus) ", Thèse de Doctorat, Faculté de Génie Agricole, Université Estadual de Campinas, (2001).

[98]Bishay, I.E., "Rheological characterization of inulin in Gums and stabilizers for the food industry", Royal Society of Chemistry, London, (1998).

[99]Naskar, B., Dan, A., Ghosh, S., Moulik, S.P., "Viscosity and solubility behavior of the polysaccharide inulin in water, wate+Dimethylsulfoxide, and water+isopropanol media", Journal of Cemical Engineering data, 55(2010) 2424-2427.

[100] Kim, Y., Wang, S.S., "Kinetic study of thermally induced inulin gel", Journal of Food Science, 66(2001) 991-997.

[101]Chiavaro, E., Vittadini, E., Corradini, C., "Physicochemical characterization and stability of inulin gels", European Food Research and Technology, 225(2007) 85–94.

[102]Hebette, C.L.M., Delcour, J.A., Koch, M.H.J, Booten, K., Kleppinger, R., Mischenko, N., Reynaers, H., "Complex melting of semi-crystalline chicory (Cichoriumintybus L.) root inulin", Carbohydrate Research, 310(1998) 65-75.

[103]Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A. Costell, E., "Inulin as texture modifier in dairy products", Food Hydrocolloids, 25(2011) 1881-1890.

[104]El-Nagar, G., Glowers, G., Tudorica, C.M., Kuri, V., "Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin", International Journal of Dairy Technology, 55(2002) 89-93.

[105]Carabin, I.G., Flamm, W.G., "Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber", Regulatory Toxicology and Pharmacology, 30(1999) 268-282.

[106]Goh, Y.J., Zhang, C., Benson, A.K., Schlegel, V., Lee, J.-H., Hutkins, R.W., "Identification of a putative operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus paracasei*", Applied and Environmental Microbiology, 72(2006) 7518-7530.

[107]Kaplan, H., Hutkins, R.W., "Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria", Applied and Environmental Microbiology, 66(2000) 2682-2684.

[108]Kaplan, H., Hutkins, R.W.,"Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei*1195", Applied and Environmental Microbiology, 69(2003) 2217-2222.

[109]Makras, E., Van Acker, G., De Vuyst, L., "The prebiotic strain *Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei* 8700:2 degrades inulin-type fructans of different degrees of polymerization". Applied and Environmental Microbiology, 71(2005) 6531-6537.

[110]Falony, G., Lazidou, K., Verschaeren, A., Weckx, S., Maes, D., De Vuyst, L., "In vitro kinetic analysis of fermentation of prebiotic inulin-type fructans by bifidobacterium species reveals four different phenotypes", Applied and Environmental Microbiology, 75(2009) 454-461.

[111]Van der Meulen, R., Markas, E., Verbrugghe, K., Adriany, T., De Vuyst, L., "In vitro kinetic analysis of oligofructose consumption by *Bacteroides* and *Bifidobacterium spp.* Indicates different degradation mechanisms", Applied and Environmental Microbiology, 72(2006) 1006-1012.

[112]Hartemink, R., Van Laere, K.M.J., Rombouts, F.M., "Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides", Journal of Applied Microbiology, 83(1997) 367-374.

[113]Ducan, S.H., Hold, G.L., Barcenilla, A., Stewart, C.S., Flint, H.J., "*Roseburia, intestinalis sp.*nov., a novel sacccharolytic, butyrate-producing bacterium from human faeces", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52(2002) 1615-1620.

[114]De Vuyst, L., Leroy, F., "Cross-feeding between bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria explains bifidobacterial competitiveness, butyrate production and gas production", International Journal of Food Microbiology, 149(2011) 73-80.

[115]Alles, M.S., Hautvast, J.G.A., Nagengast, F.M., Hartemink, R., Van Laere, K.M.J., Jansen, J.B.M., "Fate of fructooligosaccharides in the human intestine", British Journal of Nutrition, 76(1996) 211-221.

[116]Gibson, G.R., Roberfroid, M.R., "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics", Journal of Nutrition, 125(1995) 1401-1412.

[117]Meyer, D., "inulins for product development of low GI products to support weight managment. In: Dietary Fibre components and functions", Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, (2007), pp 257-270.

[118]Meyer, D., Stasse-wolthuis, M., "Inulin and bone health", Current Topics in Nutraceutical Research, 4(2006)211-226.

[119]Scholz-Ahrens, K.E., Acil, Y., Schrezenmeir, J., "Effect of oligofructose or dietary calcium on repeated calcium and phosphorus balances, bonne mineralization and trabecular structure in ovariectomized rats", British Journal of Nutrition, 88(2002) 365-378.

[120]Abrams, S.A., Griffin, I.J., Hawthorne, K.M., Liang, L., Gunn, S.K., Darlington, G., Ellis, K.J.., "A combination of prebiotic short- andlong-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents", The American Journal of Clinical Nutrition, 82(2005) 471-476.

[121]Causey, J.L., Feirtag, J.M., Gallaher, D.D., Tungland, B.C., Slavin, J.L., "Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men", Nutrition Research, 20(2000) 191-201.

[122]Pedersen, A., Sandström, B., Van Amelsvoort, J.M., "The effect of ingestion of inulin on blood lipids and gastrointestinal symptoms in healthy females", British Journal of Nutrition, 78 (1997) 215-222.

[123]Beylot, M., "Effects of inulin-type fructans on lipid metabolism in man and in animal models", British Journal of Nutrition, 93 (2005) S163-S168.

[124]Archer, B.J., Hohnson, S.K., Devereux, H.M., Baxter, A.L., "Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men", British Journal of Nutrition, 91(2004) 591-599.

[125]Cani, P.D., Joly, E., Horsmans, Y., Delzenne, N.M., "Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study", European Journal of Clinical Nutrition, 60(2006) 567-572.

[126]Femia, A.P., Luceri, C., Dolara, P., Giannini, A., Biggeri, A., Salvadori, M., Clune, Y., Collins, K.J., Paglierani, M., Caderni, G., "Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructos in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacteriumlactis on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats", Carcinogenesis, 23(2002) 1953-1960.

[127]Rafter, J., Bennett, M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P.C., Klinder, A., A'riordan, M., O'sullivan, G.C., Pool-Zobel, B., Rechkemmer, G., Roller, M., Rowland, I., Salvadori, M., Thijs, H., Van Loo., J., Watzi, B., Collins, J.K., "Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients", The American Journal of Clinical Nutrition, 85(2007) 488-496.

[128]Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., Cummings, J.H., "Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin", Gastroenterology, 108(1995) 975-982.

[129]Villegas, B., Carbonell, I., Costell, E., "Inulin milk beverages: sensory differences in thickness and creaminess using r-index análisis of the ranking data", Journal of Sensory Studies, 22(2007) 377–393.

[130]Debon, J., Prudencio, E.S., Petrus, J.C.C., "Rheological and physico-chemical characterization of prebiotic microfiltered fermented milk", Journal of Food Engineering, 99(2010) 128-135.

[131]Schaller-Povolny, I.A., Smith, D.E, "Sensory attributes and storage life of reduced fat ice cream as related to inulin content", Journal of Food Science, 64(1999) 555-559.

[132] Schaller-Povolny, I.A., Smith, D.E, "Viscosity and freezing point of a reduced fat ice cream mix as related to inulin content". Milchwissenschaft- Mlik Science International, 56(2001) 25-29.

[133]Hinrichs, W.L.J., Prinsen, M.G., Frijlink, H.W., "Inulin glasses for the stabilisation of therapeutic proteins", International Journal of Food Pharmaceutics, 215(2001) 163-174.

[134]Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., Petrovsky, N., "Inulin-a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses", Journal of Excipients and Food Chemistry, 3(2010) 27-50.

[135]Mensink, M.A., Frijlink, H.W., van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W.L., "Inulin, a flexible oligosaccharide II : review of its pharmaceutical applications", Carbohydrate Polymers, (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.cerbpol.2015.08.022

[136]Grasmeijer, N., Stankovic, M., de Waard, H., Frijlink, H.W, Hinrichs, W.L.J., "Unraveling protein stabilization mechanisms: Vitrification and water replacement in a glass transition temperature controlled system", BiochimicaetBiophysicaActa (BBA), 1834(2013) 763-769.

[137]Hadj-Ahmed, R.R., Elkordy, A.A., Chaw, C.S., Moore, A., "Compare and contraste the effects of surfactants (Pluronic®F-127 and Cremophor®EL) and sugars (β-cyclodextrin and inulin) on properties of spray dried and crystallised lysozyme". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 49 (2013) 519-534.

[138]Saluja, V., Amorij, J.-P., Kapteyn, J.C., de Boer, A.H., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., "A comparison between spray drying and spray freeze drying to produce an influenza subunit vaccine powder for inhalation", Journal of Controlled Release, 144(2010) 127-133.

[139]Amorij, J.-P, Saluja, V., Petersen, A.H, Hinrichs, W.L.J., Huckriede, A., Frijlink, H.W., "Pulmonary delivery of an inulin-stabilized influenza subunit vaccine prepared by spray-freeze drying induces systemic, mucosal humoral as well as cell-mediated immune responses in BALB/c mice", 25(2007) 870-8717.

[140] Rodríguez Furlán, L.T., Lecot, J., Pérez Padilla, A., Campderrós, M.E., Zaritzky, N., "Effect of saccharides on glass transition temperatures of frozen and freeze dried bovine plasma protein", Journal of Food Engineering, 106, (2011), 74-79.

[141] Rodríguez Furlán, L.T., Pérez Padilla, A., Campderrós, M.E., "Inulin like lyoprotectant of bovine plasma proteins concentrated by ultrafiltration", Food Research International, 43(2010) 788-796.

[142] Rodríguez Furlán, L.T., Pérez Padilla, A., Campderrós, M.E., "Development of a functional beverage formulation with high protein content, inulin and stevia", International Journal of Food Engineering, 7(2011) 1-16.

[143]Tonnis, W.F., Mensink, M.A., de Jager, A., van der VoortMaarschalk, K., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., "Size and molecular flexibility of sugars determine the storage stability of freeze-dried proteins", Molecular Pharmaceutics, 12(2015) 684-694.

[144]Wahjudi, M., Murugappan, S., van Merkerk, R., Eissens, A.C., Visser, M.R., Hinrichs, W.L.J., Quax, W.J., "Development of a dry, stable and inhalable acyl-homoserine-lactone-acylase powder formulation for the treatment of pulmonary Pseudomonas aeruginosa infections", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 48(2013) 637-643.

[145]Amorij, J.-P., Meulenaar, J., Hinrichs, W.L.J., Stegmann, T., Huckriede, A., Coenen, F., Frijlink, H.W., "Rotational design of an influenza subunit vaccine powder with sugar glass technology: Preventing conformational changes of haemagglutinin during freezing and freeze-drying". Vaccine, 25(2007) 6447-6457.

[146]Stanković, M., deWaard, H., Steendam, R., Hiemstra, C., Zuidema, J., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., "Low temperature extruded implants based on novel hydrophilic multiblock copolymer for long-term protein delivery". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 49(2013) 578-587.

[147]Hinrichs, W.L.J., Manceñido, F.A., Sanders, N.N., Braeckmans, K., de Smedt, S.C., Demmester, J., Frijlink, H.W., "The choice of a suitable oligosaccharide to prevent aggregation pfPEGylated nanoparticles during freeze thawing and freeze drying", International Journal of Pharmaceutics, 311(2006) 237-244.

[148]Hinrichs, W.L.J., Sanders, N.N., de Smedt, S.C, Demmester, J., Frijlink, H.W., "Inulin is a promising cryo- and lyoprotectant for PEGylatedlipoplexes", Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society, 103(2005) 465-479.

[149]Ayen, W.Y., Kumar, N., "A systematic study on lyophilization process of polymersomes for long-term storage using doxorubicin-loaded (PEG) 3-PLA nanopolymersomes". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 46(2012) 405-414.

[150]De Jonge, J., Amorij, J.-P, Hinrichs, W.L.J., wilschut, J., Huckriede, A., Frijlink, H.W., "Inuline sugar glasses preserve the structural integrity and biological activity of influenza virosomes during freeze-drying and storage". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 32(2007) 33-44.

[151]Audouy, S.A.L., van der Schaaf, G., Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., Wilschut, J., Huckriede, A., "Development of a dried influenza whole inactivated virus vaccine for pulmonary immunization", Vaccine, 29(2011) 4345-4352.

[152]Chen, S., Guo, D., Guo, B., Liu, J., Shen, Y., Xu, X., Huang, W., Guo, S., "Investigation on formulation and preparation of adenovirus encoding human endostation lyophilized powders", International Journal of Pharmaceutics, 427 (2012), 145-152.

[153]Srinarong, P., Faber, J.H., Visser, M.R., Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., "Strongly enhanced dissolution rate of fenofibrate solid dispersion tablets by incorporation of superdisintegrants", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 73(2009) 154-161.

[154] Van Drooge, D.-J, Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., "Anomalous dissolution behaviour of tablets prepared from sugar glass-based solid dispersions", Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 97(2004)441-452.

[155] Van Drooge, D.-J, Hinrichs, W.L.J., Wegman, K.A.M., Visser, M.R., Eissens, A.C., Frijlink, H.W., "Solid dispersions based on inulin for the stabilisation and formulation of Δ9-tetrahydrocannabinol". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 21(2004) 511-518.

[156]Visser, M.R., Baert, L., Klooster, G., V., Schuller, L., Geldof, M., Vanwelkenhyusen, I., de Kock, H., de Meyer, S., Frijlink, H.W., Rosier, J., Hinrichs, L.J., "Inulin solid dispersion technology to improve the absorption of the BCS class IV drug TMC240", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 74(2010) 233-238.

[157]Crum, M., Elkordy, A.A., Zarara, M., Elkordy, E.A., "In situ lyophilisation of nifedipine directly in hard gelatine capsules", Pharmaceutical Development and Technology, 18(2013) 1379-1390.

[158]Fares, M.M., Salem, M.S., Khanfar, M., "Inulin and poly(acrylic acid) grafted inulin for dissolution enhancement and preliminary controlled release of poorly water-soluble irbesartan drug", International Journal of Pharmaceutics, 41(2011) 206-211.

[159]Eissens, A.C., Bolhuis, G.K., Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., "Inulin as filler-binder for tablets prepared by direct compaction", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 15(2002) 31-38.

[160]Eriksson, H.J.C, Hinrichs, W.L.J., van Veen, B., Somsen, G.W., de Jong, G.J., Frijlink, H.W., "Investigations into the stabilisation of drugs by sugar glasses: I.Tablets prepared from stabilised alkaline phosphatase", International Journal of Pharmaceutics, 249(2002) 59-70.

[161]Cooper, P.D., Petrovsky, N., "Delta inulin : a novel, immunologically active, stable packing structure comprising-β-D-[2→1] poly(fructo-furanosyl)-α-D-glucose polymers". Glycobiology, 21(2011) 595-606.

[162]Honda-Okubo, Y., Saade, F., Petrovsky, N., "Advax^{TM}, a polysaccharide adjuvant derived from delta inulin, provides improved influenza vaccine protection through broad-based enhancement of adaptive immune responses". Vaccine, 30(2012) 5373-5381.

[163]Murugappan, S., Frijlink, H.W., Petrovsky, N., Hinrichs, W.L.J., "Enhanced pulmonary immunization with aerosolized inactivated influenza vaccine containing delta inulin adjuvant", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 66(2015) 118-122.

[164]Gordon, D., Kelley, P., Heinzel, S., Cooper, P., Petrovsky, N., "Immunogenicity and safety of Advax TM, a novel polysaccharide adjuvant based on delta inulin, when formulated with hepatits B surface antigen: A randomized controlled Phase1 study", Vaccine, 32(2014) 6469-6477.

[165]Honda-Okubo, Y., Kolpe, A., Li, L., Petrovsky, N., "A single immunization with inactivated H1N1 influenza vaccine formulated with delta inulin adjuvant (Advax^{TM}) overcomes pregnancy-associated immune suppression and enhances passive neonatal protection". Vaccine, 32(2014) 4651-4659.

[166]Kumar, S., Tummala, H., "Development of soluble inulin microparticles as a potent and safe vaccine adjuvant and delivery system", Molecular Pharmaceutics, 10(2013) 1845-1853.

[167]Orlando, R., Floreani, M., Padrini, R., Palatini, P.,"Determination of inulin clearance by bolus intravenous injection in healthy subjects and ascitic patients: equivalence of systemic and renal clearances as glomerular filtration markers". British Journal of Clinical Pharmacology, 46(2002) 605-609.

[168]Zhu, Z., Study of pulsedelectricfields (PEF) assistedinulin extraction fromchicoryroot and chicoryjuice purification, Thèse de Doctorat, Génie des Procédés Industriels et Développement Durable, Université de Technologie Compiègne UTC, 2004.

[169]De Leenheer, L., "Chapter 4, Production and use of inulin: Idustrial reality with a promising future In Carbohydrates as Organic Raw Materials III", CFC Carbohydrate research foundation, 1996, pp 67-92.

[170]Lou, Z., Wang, H., Wang, D., Zhang, Y., "Preparation of inulin and phenols-rich dietary fibre powder from budrock root", Carbohydrate polymers, 78(2009) 666-671.

[171]Paseephol, T., Small, D., Sherkat, F., "Process optimization for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol using responses surface methodology", Food chemistry, 104(2007)73-80.

[172]Abozed, S.S.,Abdelrashid, A., El-Kalyoubi, M., Hamad, K.I., "Production of inulin and high fructose syrup from Jerusalem artichoke tuber (Hilianthustuberosus L.)", Annals of Agricultural Sciences, 54(2009) 417-423.

[173]Abou-Arab, A.A., Talaat, H.A., Abu-salem, F.M., "Physico-chemical properties of inulin produced from Jerusalem artichoke tubers on bench and pilot plant scale", Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(2011) 1297-1309.

[174]LeiteToneli, J.T.C., Mürr, F.E.X., Martinelli, P., Dal Fabbro, I.M., Park, K.J., "Optimization of a physical concentration process for inulin", Journal of food engineering, 80(2007) 832-838.

[175]Dobre, T., Stroescu, M., Stoica, A., Draghici, E., Antohe, N.,"Inulin extraction and encapsulation", Chemical Bulletin of Polytechnica university of Timisoara, 53(2008) 215-217.

[176]Petkova, N., Ognyanov, M., Todorova, M., Denev, P., "Ultrasound-assisted extraction and characterisation of inulin-type fructan from roots of elecampane (*Inulahelenium* L.)", ActaScientificaNaturalis, 1(2015) 225-235.

[177]Yang, Z., Hu, J., Zhao, M., "Isolation and quantitative determination of inulin-type oligosaccharides in roots of MorindaOfficinalis", Carbohydrate polymers, 83(2011) 1997-2004.

[178]Waleckx, E., Gschaedler, A., Colonna-Ceccaldi, B., Monsan, P., " Hydrolysis of fructans from Agave tequilana Weber Var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process", Food Chemistry, 108(2008) 40-48.

[179]Brokl, M., Hernández- Hernández, O., Soria, A.C., Sanz, M.L., "Evaluation of different operation modes of high performance liquid chromatography for the analysis of complex mixtures of neutral oligosaccharides", Journal of Chromatography A, 1218 (2011) 7697-7703.

[180]Zouambia, Y., Fonctionnalisation des polysaccharides en vue de la préparation des dérivés amphiphiles associatifs. Etude comparative des propriétés physicochimiques, Thèse de Doctorat, Faculté de Technologie, Université Saad Dahleb –Blida, (2012).

[181]Coussement, P., "Inulin and oligofructose as dietary fiber: Analytical, nutritional and legal aspects. In complex carbohydrates in foods", CRC Press Marcel Dekker, New York, (1999), pp 203-227.

[182]Henshall, A., "High performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD): A powerfull tool for the analysis of dietary fiber and complex carbohydrates. In Complexe carbohydrates in food", CRC Press Marcel Dekker, New York, (1999), pp 267-289.

[183]Joye, D., Hoebregs, H., "Determination of oligofructose, a soluble dietary fiber, by high-temperature capillary gas chromatography", Journal of AOAC International, 83(2000) 1020-1025.

[184]Cataldi, T.R.I., Campa, C., De Benedetto, G.E., "Carbohydrate analysis by high performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: The potential still growing", Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 368(2000)739-758.

[185]Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Johnston, M.R., Cooper, P.D., Petrovsky, N., "Analysis of the hydrolysis of inulin using real time H-1 NMR spectroscopy", Carbohydrate Research, 352(2012) 117-125.

[186]Yalpani, M., "Chemistry of polysaccharide modification and degradation, In Carbohydrate: structure, synthesis and dynamics", Dorcrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publichers, (1999), pp294-318.

[187]Kays, S.J., Nottingham, S.F., "Chemical composition and inulin chemistry, in Biology and chemistry of jerualem artichoke Hilianthustuberosus L.", CRC Press, Taylor and Francis Group, (2008), pp75-90.

[188]Bruson, H.A., "CyanoethylationIn Organic Reactions", John Wiley and Sons, Inc., (2011), pp79–135.

[189]Rajasekaran, A., Thampi, P.P., Murugesan, S., "Cyanoethylation: A vital reaction in the synthesis of biologically active heterocycles", Asian Journal of Chemistry, 16(2004)1-8.

[190]Verraest, D.L., da Silva, L.P., Peters, J.A., van Bekkum, H., "Synthesis of Cyanoethyl inulin, aminopropyl inulin and carboxyethyl inulin", Starch/Stärke, 48(1996) 191-195.

[191]Stevens, C.V., Meriggi, A., Booten, K., "Chemical modification of inulin, a valuable renewable resource, and its industrial applications", Biomacromolecules, 2(2001) 1-15.

[192]Bognolo, G., "Nonionic surfactants In Lipid technologies and applications", Marcel Dekker, New York, (1997), pp 633-693.

[193]Rogge, T.M., Stevens, C.V., "Facilitated synthesis of inulin esters by transesterifiction", Biomacromolecules, 5(2004) 1799-1803.

[194]Van Dam, P.H., Winkel, C., Visser, A., "Fractionation of triglyceride oils", U.S.Patent 5872270, (1999).

[195]Tomecko, C.G., Adams, R., "The allyl ethers of various carbohydrates", Journal of the American Chemical Society, 45(1923)2698-2701.

[196]Schacht, E., Ruys, L., Vermeersch, J., Remon, J.P., "Polymer-drug combinations: Synthesis and characterization of modified polysaccharides caontaining procainamide moieties", Journal of Controlled Release, 1(1984) 33-46.

[197]Kunz, M., Haji, B.A., "Inulin derivatives, process for their preparation and their use", EU Patent Office, Patent No.EP 638589 A1, (1995).

[198]Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Chemical hydrophobic modification of inulin in aqueous media: synthesis of β-hydroxyalkyl ethers of inulin", Carbohydrate Polymers, 81(2010) 681-686.

[199]Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Synthesis of β-hydroxyalkyl ethers of inulin in aqueous surfactant media", Carbohydrate Polymers, 82(2010)1168-1173.

[200]Irvine, J.C., Steele, E.S., "The constitution of polysaccharides, Part I. the relationship of inulin to fructose", Journal of Chemical Society, 117(1920) 1474-1489.

[201]Karrer, P., Lang, L., "Polysaccharides, V. Methylation of inulin", Helvetica ChimicaActa, 4(1921) 249-256.

[202] Okamoto, Y., Hatada, K., "Separation agent comprising polysaccharide carbamate", EU Patent 157365, (1985) http://www.google.com.ar/patents/EP0157365A2?cl=en

[203]Stevens, C.V., Meriggi, A., Peristeropoulou, M., Christov, P.P., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Pittevils, N., Tadros, T.F., "Polymeric surfactants based on inulin, a polysaccharide extracted from chicory. 1. Synthesis and interfacial properties", Biomacromolecules, 2(2001) 1256-1259.

[204]Tadros, T.F., Vandamme, A., Levecke, B., Booten, K., Stevens, C.V., "Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin", Advances in Colloid and Interface Science, 108 (2004) 207-226.

[205]Kennedy, J.F., Tun, H.C., "Preparation of carbonates of polysaccharides and cycloamyloses", Carbohydrate research, 26(1973) 401-408.

[206] Won, C.-Y., Chu, C.-C., "Inulin polysaccharide having pendant amino acids: synthesis and characterization", Journal of Applied Polymer Science, 70(1998) 953-963.

[207]Verraest, D.L., Peters, J.A, Batelaan, J.G., van Bekkum, H., "Carboxymethylation of inulin", Carbohydrate research, 271(1995) 101-112.

[208]Verraest, D.L., Peters, J.A, van Bekkum, H., van Rosmalen, G.M., "Carboxymethyl inulin: a new inhibitor for calcium carbonate precipitation", Journal of the American Oil Chemists' Society, 73(1996) 55-62.

[209]Berghofer, E., Cramer, A., Schiesser, E., "Chemical modification of chicory root inulin, in Inulin and inulin containing crops", 1st edition, Elsevier, Amsterdam, (1993), pp 135-142.

[210]Ludtke, M., "Inulin phosphoric acid", Biochemische, Zeitschrift, 212(1929) 475-476.

[211]Besemer, A.C., Van Bekkum, H., "The relation between calcium sequestring capacity and oxidation degree of dicarboxy-starch and dicarboxy-inulin", Starch, 46(1994) 419-422.

[212]Besemer, A.C, van Bekkum, H., "The hypochlorite oxidation of inulin", Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 113(1994) 398-402.

[213]Besemer, A.C., van Bekkum, H., "The catalytic effect of bromide in the hypochlorite oxidation of linear dextrins and inulin", Starch, 46(1994) 101-106.

[214]Verraest, D.L., Peters, J.A., van Bekkum, H., "the platinum-catalyzed oxidation of inulin", Carbohydrate Research, 306(1998) 197-203.

[215] de Nooy, A.E.J., Besemer, A.C., vanBekkum, H., "highly selective temperature mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides",Recueil des TravauxChimiques de Pays-Bas, 113(1994)165-166.

[216]deNooy, A.E.J., Besemer, A.C, van Bekkum, H., "Highly selective temperature mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans", Carbohydrate Research, 269(1995) 89-98.

[217]deNooy, A.E.J., Pagliaro, M., van Bukkum, H., Besemer, A.C, "Autocatalytic oxidation of primary hydroxyl functions in glucans with nitrogen oxides", Carbohydrate Research, 304(1997) 117-123.

[219]Vervoort, L., van den Mooter, G., Augustijns, P., Busson, R., Toppet, S., Kinget, R., "Inulin hydrogels as carriers for colonic drug targeting, I. synthesis and characterization of metacrylated inulin and hydrogel formation", Pharmaceutical Research, 14(1997) 1730-1737.

[220]Vervoort, L., Vinckier, I., Moldenaers, P., Van den Mooter, G., Augustijns, P., Kinget, R., "Inulin hydrogels as carriers for colonic drug targeting, Rheological characterization

of the hydrogel formation and the hydrogel network", Journal of Oharmaceutical Science, 88(1999) 209-214.

[221]Dergunov, S.A, Nam, I.K., Maimakov, T.P., Nurkeeva, Z.S., Shaikhutdinov, E.M., Mun, G.A., "Study on radiation-induced grafting of hydrophilic monomers onto chitosan", Journal of Applied Polymer Science, 110(2008) 558-563.

[222]Puoci, F., Iemma, F., Curcio, M., Parisi, O., Cirillo, G., Spizzirri U.G., Picci, N., "Synthesis of methacrylic-ferulic acid copolymer with antioxidant properties by single-step free radical polymerization", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(2008) 10646-10650.

[223]Spizzirri, U.G., Iemma, F., Puoci, F., Cirillo, G., Curcio, M., Parisi, O.I., Picci, N., "Synthesis of antioxidant polymers by grafting of gallic acid and catechin on gelatin", Biomacromolecules, 10(2009) 1923-1930.

[224]Kitagawa, M., Tokiwa, Y., "Polymerization of vinyl sugar ester using ascorbic acid and hydrogen peroxide as a redox reagent", Carbohydrate Polymers, 64(2006) 218-223.

[225]Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O.I., Cirillo, G., Spizzirri, U.G., Picci, N., "Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure", Journal of Agricultural and food chemistry, 57(2009)5933-5938.

[227]Cirillo, G., Kraemer, K., Fuessel, S., Puoci, F., Curcio, M., Spizzirri, U.G., Picci, N., "Biological activity of a gallic acid-gelatin conjugate", Biomacromolecules, 11(2010) 3309-3315.

[228]Liu, J., Lu, J.-F., Kan, J., Wen, X.-Y., Jin, C.-H., "Synthesis, characterization and in vitro anti-diabetic activity of catechin grafted inulin", International Journal of Biological Macromolecules, 64(2014) 76-83.

[229]Tadros, Th.F., Vandamme, A., Booten, K., Levecke, B., Stevens, C.V., "Stabilization of emulsions using hydrophobically modified inulin (polyfructose)", colloids and surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects, 250(2004) 133-140.

[230]Tadros, T., "Polymeric surfactants in disperse systems", Advances in Colloid and Interface Science, 147(2009) 281-299.

[231] D. Exerowa, D., Gotchev, G., kolarov, T., Kristov, Khr.,Levecke, B., Tadros, Th., "Oil-in-water emulsion films stabilized by polymeric surfactants based on inulin with different degree of hydrophobic modification", colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 334(2009) 87-91.

[232]Khristov, K., Czarnecki, J., "Emulsion films stabilized by natural and polymeric surfactants", Current Opinion in Colloids and Interface Science, 15(2010)324- 329.

[233]Gochev, G., Petkova, H., Kolarov, T., Khristov, Khr.,Levecke, B., Tadros, Th.F., Exerowa, D., "Effect of grafting in hydrophobically modified inulin polymeric surfactants on the steric forces in foam and oil-in-water emulsion films", Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 391(2011) 101-104.

[234]Morros, J., Infante, M.R., Pons, R., "Surface activity and aggregation of pristine and hydrophobically modified inulin", The Royal Society of Chemistry, soft matter, 8(2012) 11353-11362.

[235]Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Hydrophobically modified inulin from alkenyl succinic anhydride in aqueous media", Carbohydrate Polymers, 84(2011)1110-1116.

[236]Kokubun, S., Ratcliffe, I., Williams, P.A., "The emulsification properties of octenyl- and dodecenyl-succinylated inulin", Food hydrocolloids, 50(2015) 145-149.

[237]Pitarresi, G., Giacomazza, D., Triolo, D., Giammona, G., San Biagio, P.L., "Rheological characterization and realize properties of inulin-based hydrogels", Carbohydrate Polymers, 88(2012) 1033-1040.

[238]Van den Mooter, G., Vervoort, L., Kinget, R., "Characterization of methacrylated inulin hydrogels designed for colon targeting: in vitro release of BSA", Pharmaceutical Research, 20(2003) 303–307.

[239] Maris, B., Verheyden, L., Van Reeth, K., Samyn, C., Augustijns, P., Kinget, R., Van den Mooter, G., "Synthesis and characterisation of inulin-azo hydrogels designed for colon targeting", International Journal of Pharmaceutics, 213 (2001)143–152.

[240]Castelli, F., Sarpieto, M.G., Micieli, D., Ottimo, S., Pitarresi, G. Tripodo, G., Carlisi, B., Giammona, G., "Differential scanning calorimetry study release from an inulin-based hydrogel and its interaction with a biomembrane model: pH and loading effect", European journal of pharmaceutical sciences, 35(2008) 76-85.

[241]Tripodo, G., Pitarresi, G., Cavallaro, G., Palumbo, F. S., &Giammona, G., "Controlled release of IgG by novel UV induced polysaccharide/poly(amino acid) hydrogels", Macromolecular Bioscience, 9(2009) 393-401.

[242]Izawa, K., Akiyama, K., Abe, H., Togashi, Y., Hasegawa, T., "Inulin-based glycopolymer: Its preparation, lectin-affinity and gellation property", Bioorganic and medicinal chemistry, 21(2013) 2895-2902.

[243]Poulain, N., Dez, I., Perrio, C., Lasne, M.-C., Prud'homme, M.-P., Nakache, E., "Microspheres based on inulin for the controlled release of serine protease inhibitors: preparation, characterization and in vitro release", Journal of Controlled Release, 92(2003) 27-38.

[244]Öner, M, Uysal, U., "Synthesis of hydroxyapatite crystals using carboxymethyl inulin for use as a delivery of ibuprofen", Materials Science and Enginnering C, 33(2013) 482-489.

[245]Robert, P. García, P., Reyes, N., Chávez, J. Santos, J., "Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of Gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system", Food Chemistry, 134(2012)1-8.

[246]López-Molina, D., Chazarra, S., How, C.W., Pruidze, N., Perán, E.N., Cánovas, F.G., García-Ruiz, P.A., Melgarejo, F.R., Rodríguez-López, J.N., "Cinnamate of inulin as a vehicle for delivery of colonic drugs", International journal of pharmaceutics, 479(2015) 96-102.

[247]Hartzell, A.L., Maldonado-Gómez, M.X., Yang, J., Hutkins, R.W., Rose, D.J., "In vitro digestion and fermentation of 5-formyl-aminosailcylate-inulin: A potential prodrug of 5-aminosalicylic acid", Bioactive Carbohydrates and DiataryFibre, 2(2013)8-14.

[248]Mandracchia, D., Tripodo, G., Latrofa, A., Dorati, R., "Amphiphilic inulin-D-α-tocopherol succinate (INVITE) bioconjugates for biomedical applications", Carbohydrate Polymers, 103(2014) 46-54.

[249]Pitarresi, G., Tripodo, G., Cavallaro, G., Palumbo, F.S., Giammona, G., "Inulin-iron complexes: A potential treatement of iron deficiency anaemia", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 68(2008) 267-276.

[250]Rahul, R., Jha, U., Sen, G., Mishra, S., "A novel polymeric flocculant based on polyacrylamide grafted inulin: aqueous microwave assisted synthesis", Carbohydrate Polymers, 99(2014) 11-21.

[251]Rahul, R., Jha, U., Sen, G., Mishra, S., "Carboxymethyl inulin: A novel flocculant for wastewater treatment", International Journal of Biological Macromolecules, 63(2014) 1-7.

CHAPITRE II

MATERIEL ET METHODES

II.1. Introduction

Le présent chapitre est consacré à la description de l'ensemble des expériences effectuées. Il comprend la collection et les traitements des matières végétales utilisées, notamment l'artichaut, le topinambour et la chicorée endive.L'extraction de l'inuline à partir de ces plantes est réalisée en utilisant de deux modes de chauffage: le chauffage conventionnel et le chauffage par induction électromagnétique. Une méthodologie à base de plan d'expériences a été également envisagée afin de déterminer les conditions opératoires optimales d'extraction permettant d'obtenir le meilleur compromis entre un bon rendement et une meilleure qualité en extraits.

La caractérisation des extraits est effectuée en utilisant des méthodes d'analyses chimiques, chromatographiques et spectroscopiques que nous décrirons dans ce chapitre.

En outre, d'autres méthodes expérimentales pour la synthèse et la caractérisation physico-chimique des dérivés issus de la modification chimique par estérification de ce polysaccharide sont décrites dans la troisième partie de ce travail.

Afin de valoriser cette étude expérimentale, une dernière partie a été consacrée à l'application des dérivés obtenus en formulant des hydrogels antioxydants.

Dans notre travail, le choix de biopolymère: l'inuline été le fruit d'une étude bibliographique sur les travaux publiés durant les années 2000 et 2013. L'étude est réalisée sur 10 polysaccharides, à savoir la cellulose, l'amidon, l'alginate, le chitosane, le xanthane, la pectine, le dextrane, le carrageenan, le pullulan et l'inuline. Ces macromolécules ont des applications les plus répondues dans les domaines pharmaceutique et agroalimentaire. Cette étude a été focalisée sur les aspects suivants : i) source et procédés d'extraction/isolation, ii) modification/fonctionnalisation et application dans le domaine pharmaceutique.

II.2. Matériels

II.2.1. Matériel biologique

Notre travail a été effectué sur trois matières végétalesappartenant à la famille des Astéracées et une espèce de champignons pour l'extraction de l'inuline, les sources végétales sont les artichauts, les racines de chicorée et les tubercules de topinambour, la dernière matière est les truffes de désert (des champignons).

II.2.1.1. Artichauts

L'artichaut (*CynaraScolymus L.*)est une espèce appartenant à la famille des *Asteraceae* qui a été apprécié par les anciens Egyptiens, les Grecs et les Romains, et joue encore un rôle

important dans l'alimentation humaine, en particulier dans la région méditerranéenne. L'artichaut est également cultivé dans le Proche-Orient, l'Afrique du Nord (Egypte, Maroc, Algérie, Tunisie), Amérique du Sud, les Etats-Unis et sa culture se répand en Chine**[252]**. Selon les données de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO)**[47]**,la production des artichauts, en Algérie, est augmentée de 6250 tonnes en 1990 à plus de 83000 tonnes en 2013 avec un rendement de production de plus de 15 tonnes/Ha (Figure II. 1).

Les artichauts accumulent une grande quantité d'inuline environ 50-70g/kg de leur poids frai,cette dernière possède un degré de polymérisation élevé (DP= 46) par rapport à d'autres sources végétales riches en inuline tels que le topinambour (*Helianthustuberosus* L.) (DP =26) et les chicorées (*Cichoriumintybus* L.) (DP =24)**[15,33,253]**.

Lors de cette étude, on a choisi les artichauts comme source d'inuline grâce à sa disponibilité et sa richesse en inuline de haut degré de polymérisation. Les artichauts sont obtenus de la wilaya de Mostaganem, elles ont été récoltés entre la dernière semaine de mois de février et la 1ère semaine de mois de mars 2014, et identifiés au niveau de l'Institut Technique des Cultures Maraîchères et Industrielles (ITCMI) comme étant une espèce de *Cynarascolymus* L. = *Cynaracardunculus* L. subsp. *scolymus* (L.) Hegi., variété (cultivar) Blanc d'Oran.

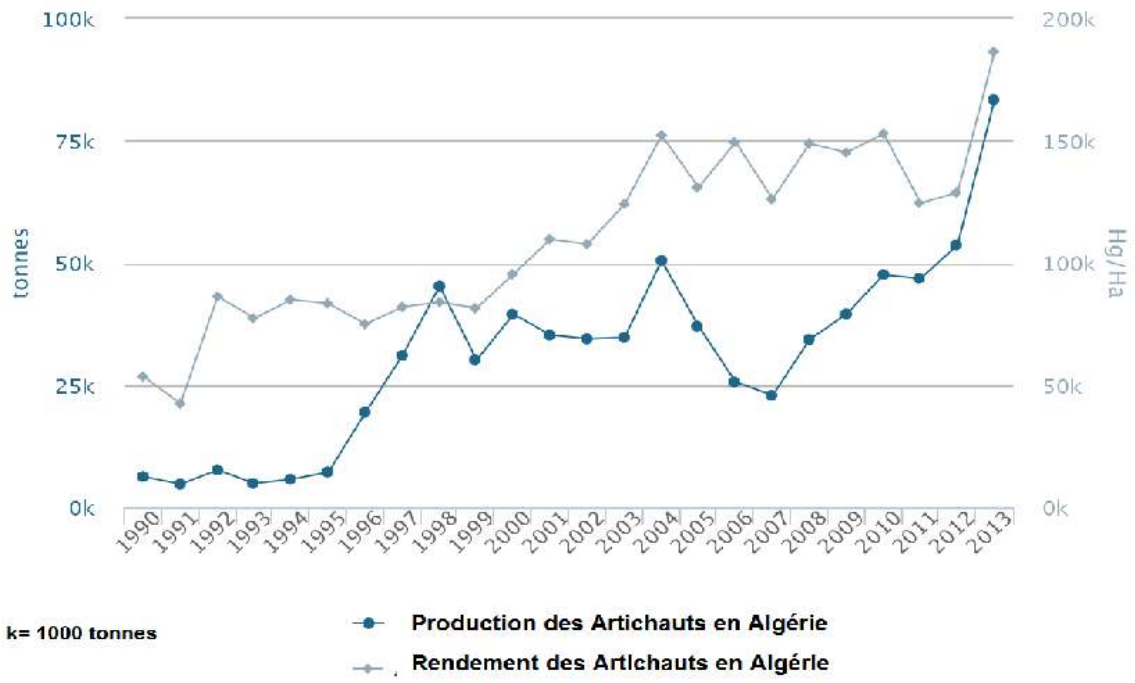


Figure II. 1 :Production des artichauts en Algérie durant les années 1990 et 2013**[47]**

Les akènes des artichauts ont était séparés des bractées, tranchés en épaisseur de 3mm puis séchés dans l'étuve à une température de 55°C pendant 24h. La matière végétale séchée est broyée et tamisée afin d'avoir des grains de taille comprise entre 0.63 et1.25 mm, puis elle est conservée dans des boites en verre pour les utilisations ultérieures (Figure II. 2).

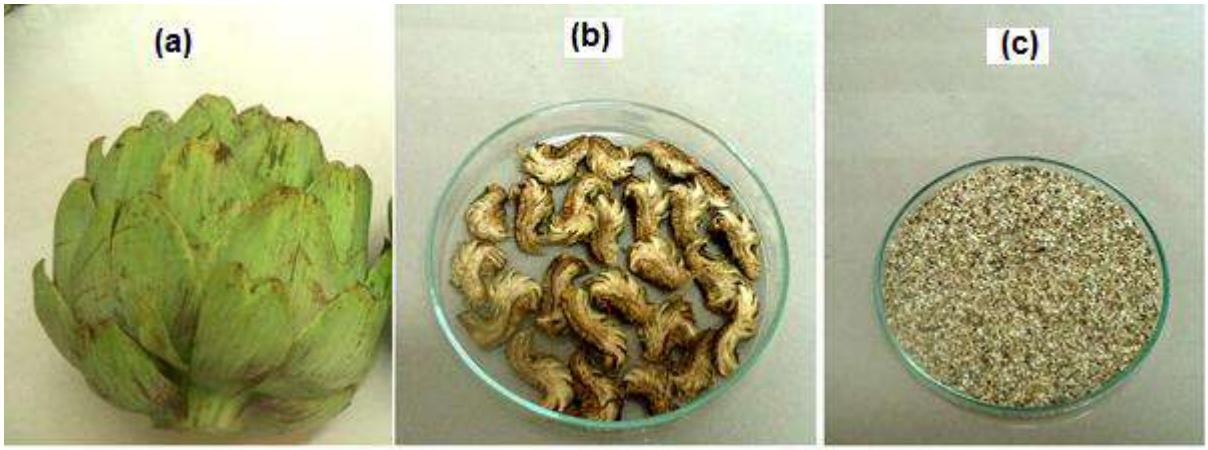


Figure II. 2 : Schéma représentant (**a**) fleur d'artichaut variété Blanc d'Oran, (**b**) les akènes d'artichaut coupés et séchés, (**c**) les akènes d'artichauts broyés et tamisés

II.2.1.2. Racines de chicorée

La chicorée endive utilisée dans notre travail fait partie de l'espèce chicorée intybus (*Cichoriumintybus* L.). Les racines ont été récoltées le début d'octobre 2014 au monastère de Tibhirine, Médéa (Figure II. 3). Elles étaient cultivées en petites quantités à des fins d'alimentation (utilisation des feuilles dans la préparation des salades). Les racines obtenues sont nettoyées, puis elles ont subi les mêmes étapes suivies pour les akènes d'artichauts jusqu'à l'obtention des particules des racines de chicorées qui ont été également stockées dans les flacons en verre dans un endroit sec.



Figure II. 3 : Racines de chicorée endive

II.2.1.3. Topinambour

Le topinambour *(Helianthustuberosus* L.), aussi appelé artichaut de Jérusalem, truffe du Canada, est une espèce de plante vivace de la famille des astéracées, cultivée comme légume pour ses tubercules riches en inuline. Les tubercules de topinambour utilisés dans cette étude sont récoltés durant la première semaine du mois de mars 2015. Ils étaient bien lavés à l'eau de robinet puis épluchés afin de récupérer la pulpe seulement. Les pulpes ont été découpées en fines tranches et séchées dans l'étuve à une température de 55°C pendant 24h, les pulpes séchées sont broyées et tamisées afin d'avoir des graines de taille comprise entre 0.63 et 1.25mm (Figure II. 4), qui ont été conservées dans des boites en verres et à des endroits secs pour des utilisations ultérieures.

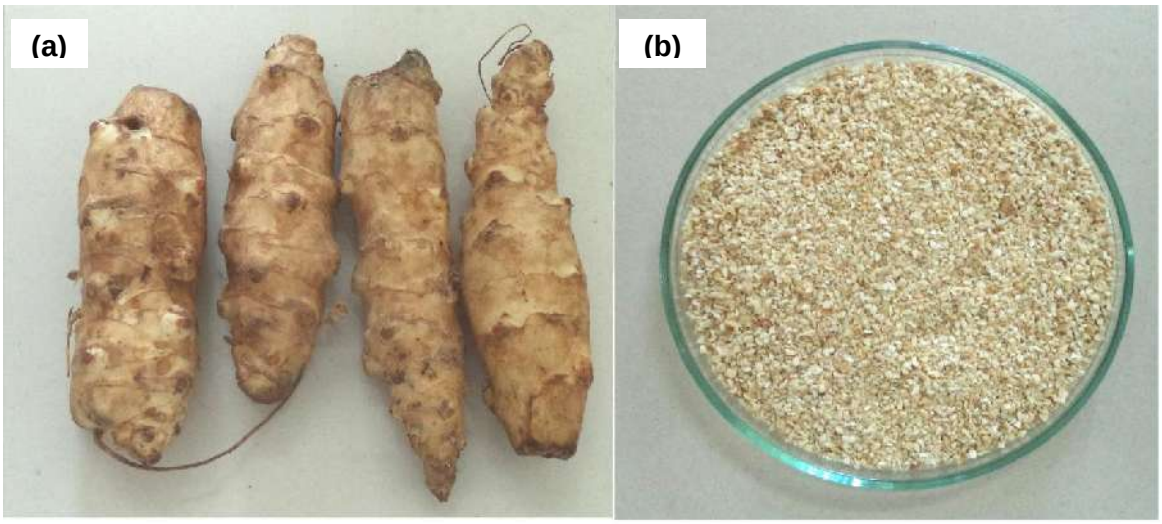


Figure II. 4 : Tubercules de topinambour utilisés dans cette étude**(a)** tubercules intactes, **(b)** tubercules après le séchage, broyage et tamisage

II.2.1.4. Truffes de désert

Les truffes sont des champignons hypogynes qui poussent exclusivement souterrain. Elles se produisent généralement à l'interface entre la litière organique et le sol minéral, environ 2,5-15cm de profondeur, mais peuvent émerger à la surface ou être trouvé au plus de 30cm de profondeur. Une truffe est le corps de fructification d'un champignon ascomycète souterrain, l'une des nombreuses espèces du genre *Tuber*.

Les truffes du désert se développent dans les zones arides et semi-arides, en particulier autour de la méditerranée, spécialement dans les pays d'Europe du Sud, y compris l'Espagne, le Portugal, l'Italie, la France, la Hongrie et la Turquie, l'Afrique du Nord qui va de la Mauritanie à l'Egypte et au Moyen-Orient. Cependant, certaines espèces de truffes du désert ont été également trouvées au Botswana, en Afrique du Sud et en Amérique du Nord**[254]**.

En Algérie, la production nationale totale de truffes du désert est inconnue, bien qu'elle peutatteindre au sud-ouest environ 4 millions de quintaux au cours des années de bonne production; les truffes sont habituellement vendues dans les marchés locaux ou exportés vers l'Europe et le Moyen-Orient. Les truffes du désert en Algérie sont représentées par trois genres, *Tirmanianivea* (Terfesse lebyadh), *Terfeziaarénaria* (Terfesse Lahmar) et *TerfiziaClaveryi* (Terfesse Lek'hal)**[255]**.

Dans notre travail, les truffes de désert (*Terfeziaarenaria*) ont été récoltées durant la première semaine du mois d'avril 2014 de la wilaya d'El-Bayad (Figure II. 5), et elles étaient identifiées par Mr Bradai (enseignent chercheur à l'université de Ouargla), spécialiste dans les truffes de dessert en Algérie. Les truffes obtenues sont traitées de la même façon que les autres sources végétales utilisées, la poudre finale est conservée dans des flacons en verre et stockée dans un endroit sec.

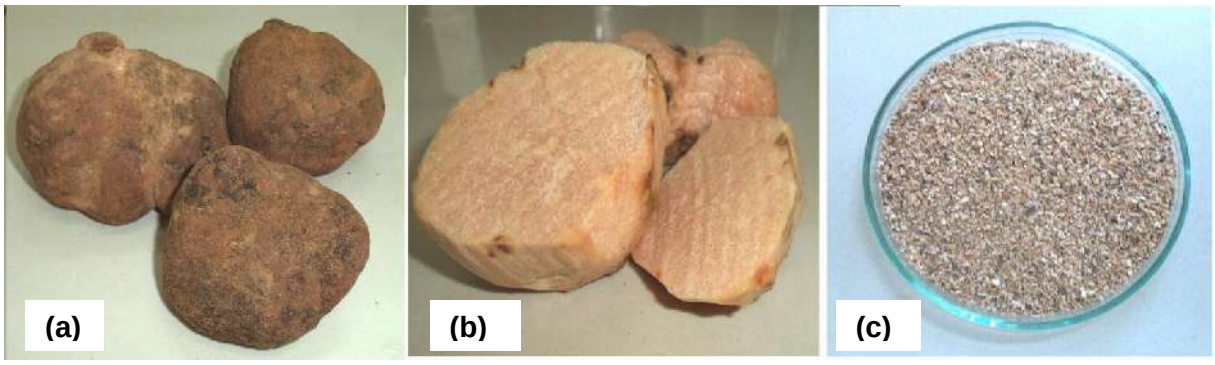


Figure II. 5 : Truffes de désert utilisées **(a)** truffe intacte, **(b)** truffe épluchée, **(c)** truffe séchée, broyée et tamisée

II.2.2. Matériel non biologique

II.2.2.1. Gomme xanthane

Le xanthane fait partie d'une large famille de polysaccharides d'origine microbienne. C'est un polyoside extracellulaire produit par fermentation de *XanthomonasCampestris*sur substrat glucidique et dans des conditions de milieu déterminées: pH compris entre 6.0 et 7.5, température entre 18 et 31°C, la souche étant conservée sous forme lyophilisée.

La chaîne principale est formée d'unités D-glucose liées entre elles par des liaisons β-(1→4) tout comme la cellulose, et sur laquelle sont branchées des chaînes latérales. Il y a un branchement latéral triosidique tous les 2 glucoses, composés d'un α-D-mannose, d'un acide β-D-glucuronique et d'un β-D-mannose terminal (Figure II. 6). L'unité α-D-mannose est généralement acétylée sur le carbone 6, et environ 30% des β-D-mannoses portent un groupement pyruvate chélaté entre les carbones 4 et 6. La présence de l'acide glucuronique et

l'acide pyruvique confère à la gomme xanthane un caractère anionique marqué. Les contre-ions les plus couramment rencontrés sont Na^+, K^+ et Ca^{2+} **[256]**.

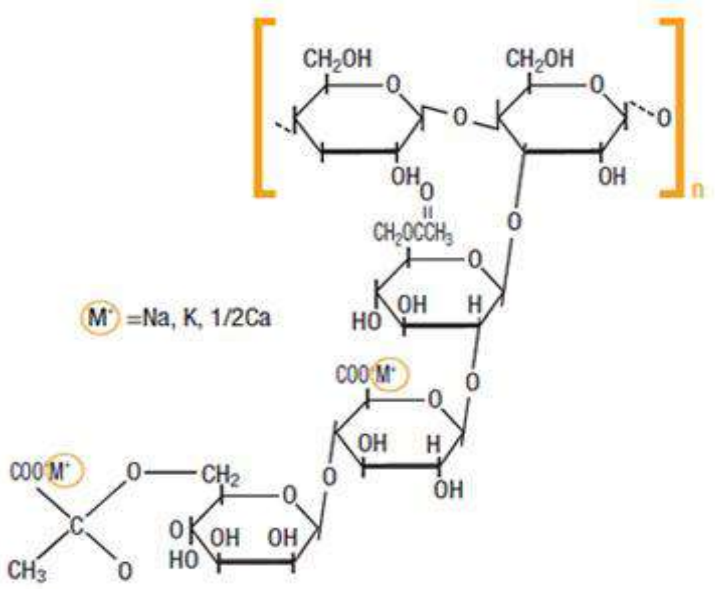


Figure II. 6 : Structure chimique de l'unité de base de la gomme xanthane**[256]**

Les solutions de xanthane sont très visqueuses, même à de faibles concentrations. La capacité d'épaississement de solutions de xanthane est en relation avec la viscosité; une viscosité élevée résiste à l'écoulement. Les solutions de xanthane sont pseudo-plastique ou rhéofluidifiant, et la viscosité diminue avec un taux de cisaillement croissant. La viscosité dépend également de la température, la concentration en biopolymère, la concentration de sels, et le pH**[257]**.

La gomme xanthane sodique(RhodicareT) utilisé lors de ce travail est obtenue à partir de Solvay Novecare, la fiche de spécification est donnée par l'Annexe 1 (Tableau A1.1).

II.2.2.2. Produits chimiques utilisés

Les produits chimiques, solvants et réactifs utilisés dans cette étude sont de grade analytique et ils sont stockés à l'abri de la lumière et à la température ambiante. Il convient de préciser qu'ils sont utilisés tels quels sans aucune purification supplémentaire. L'origine et la pureté de ces produits sont décrites dans le Tableau II. 1.

Tableau II. 1:Produits chimiques, réactifs et solvants

Réactifs et solvants	Pureté (%)	Formule brute	M (g/mol)	Fournisseur
Acétone	99.8	C_3H_6O	58.08	Sigma-Aldrich
Acide Acétique	/	CH_3COOH	60.05	Fluka
Acide ascorbique	100	$C_6H_8O_6$	176.13	Sigma
Acide chlorhydrique	37	HCl	36.46	Sigma
Acide galacturonique	97	$C_6H_{10}O_7$, H_2O	212.15	Sigma-Aldrich
Acide phosphorique	98	H_3PO_4	98	Sigma-Aldrich
Aniline	99.5	$C_6H_5NH_2$	93.13	Sigma-Aldrich
Butanol	99	C_4H_9OH	74.12	Sigma-Aldrich
Carbonate de Sodium	100	Na_2CO_3	105.99	Sigma-Aldrich
Diphenyl amine	99	$(C_6H_5)_2NH$	169.23	Sigma-Aldrich
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	100	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	394.32	Sigma
Ethanol	96	C_2H_5OH	46.07	Sigma-Aldrich
Fructose	99	$C_6H_{12}O_6$	180.16	Sigma
Glucose	99.5	$C_6H_{12}O_6$	180.16	Sigma
Hydroxyde de calcium	97	$Ca(OH)_2$	74.09	Sigma-Aldrich
Hydroxyde de sodium	97	NaOH	40	Panreac
Inuline native	99	$C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$	DP= 2-60	Zeyu Guangzhou, Co
Isopropanol	99.7	C_3H_7OH	60.10	Aldrich
Peroxyde d'hydrogène	35	H_2O_2	34.01	Sigma-Aldrich
Réactif d'Anthrone	97	$C_{14}H_{10}O$	194.23	Sigma-Aldrich
Réactif de Résorcinol	99	$C_6H_6O_2$	110.11	Sigma-Aldrich
Saccharose	99.5	$C_{12}H_{22}O_{11}$	342.30	Sigma
Sulfate de magnésium	99.5	$MgSO_4$	120.36	Sigma-Aldrich
Thiourée	99	CH_4N_2S	76.12	Sigma-Aldrich

II.2.2.3. Petit matériel

- Tamis d'un diamètre de 0.63 à 1.25 (Endocotts LTD, London, England),

- Thermomètre type checktemps, Hanna,
- Mortier et son pilon en verre,
- Agitateur menu d'une plaque chauffante type :VelpScientifica,
- Balance électronique : Sartorius BP 121S, précision 10^{-4}g,
- Centrifugeuse d'un mouvement rotatif avec une vitesse maximale de 6000tr/min,
- Diffractomètre à rayon X (DRX) de type XPert MPD,
- Etuve de type MEMMERT 40050-IP20,
- Générateur de l'azote de type PEAK SCIENTIFIC NM32LA,
- Installation de filtration sous vide,
- Pastilleuse de FTIR type SHIMADZU S72-120KN,
- pH mètre type HANNA,
- Plaque à induction électromagnétique à 09 niveaux type Samsung,
- Spectrophotomètre FTIR type BRUKER TENSOR II,
- Spectrophotomètre UV-visible type : CINTRA 303,
- Viscosimètre capillaire type Ubbelohde.

II.3. Extraction de l'inuline

II.3.1. Détermination du taux d'humidité des matières végétales

Le taux d'humidité des espèces végétales et des truffes de désert est déterminé selon les méthodes officielles d'analyse AOAC**[258]**à partir d'une masse initiale de matière végétale (m_0) introduite dans un Creuset en porcelaine taré, puis séchée dans une étuve à 105°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La différence entre les deux masses pesées m_0 et m représente la quantité d'eau contenue initialement dans l'échantillon étudié. Le taux d'humidité est donné par l'expression suivante**[54]**:

$$H(\%) = \frac{m_0 - m}{m_0} \qquad \text{(II.1)}$$

Où m est la masse finale après le séchage.

II.3.2. Procédure de l'extraction de l'inuline

II.3.2.1. Diffusion dans l'eau chaude

Une quantité des akènes des artichauts traitée est immergée dans l'eau distillée chaude de température bien déterminée. La suspension est tenue sous agitation constante (250tr/min) dans un bain-marie.La température, le rapport pondéral (masse matière végétale sèche/volume d'eau (g/ml)), le temps d'extraction (contact matière végétale/ solvant) ainsi que le procédé

d'extraction (chauffage conventionnel ou induction électromagnétique) sont considérés comme paramètres d'optimisation, à la fin de cette étape une filtration est effectuée et le filtrat est récupéré pour les étapes ultérieures.

Le dispositif expérimental utilisé pour l'extraction de l'inuline assistée par induction électromagnétique est décrit dans la Figure II. 7.

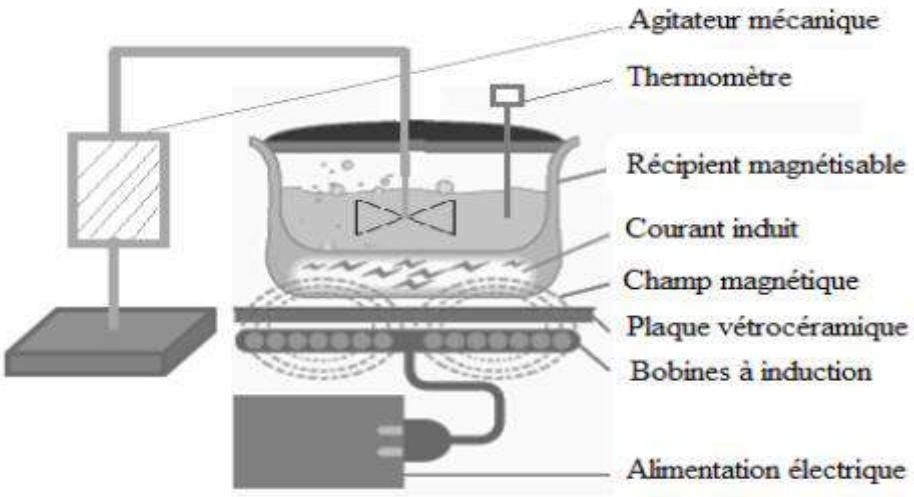


Figure II. 7: Dispositif d'extraction de l'inuline par EMIH

Le choix des facteurs à optimiser est basé sur les travaux déjà effectués dans ce domaine (Tableau II. 2).

Tableau II. 2 : Résumé des conditions d'extraction d'inuline.

Source	T (°C)	Temps (min)	Rapport pondéral (m/v) (g/ml)	Réf.
Topinambour (*Helianthus tuberosus L.*)	85	60	$11.5^{(f)}/85$	[54]
Topinambour (*Helianthus tuberosus L.*)	76.65	20	$1^{(s)}/10.56$	[259]
Racine de chicorée (Cichoriumintybus)	80± 2	60	$1^{(f)}/2$	[174]
Racine de bardane (burdockroot)	50	5	$5^{(f)}/75$	[170]
Artichauts (*Cynarascolymus L.*)	85	10	$1^{(f)}/40$	[33]
Plusieurs sources	85±2	15	$1^{(s)}/50$	[23]
Topinambour (*Helianthus tuberosus L.*)	70	60	$1^{(f)}/5$	[178]
Topinambour (*Helianthus tuberosus L.*)	65-95	40-70	$1^{(s)}/2.5$à 1/20	[177]
Topinambour (*Helianthus tuberosus L.*)	80	20	/	[260]
Racine de chicorée (Cichoriumintybus)	98	90	$1^{(s)}/12$	[261]
Morindaofficinalis (DP<10)	100	90	$20^{(s)}/400$	[177]
Topinambour (*Helianthus tuberosus L.*)	95-98	10	$2^{(f)}/10$	[171]

$^{(f)}$: matière fraiche ; $^{(s)}$: matièreséchée

II.3.2.2. Purification du filtrat

L'extrait obtenu à partir de la 1ère étape contient de l'inuline solubilisée et d'autres constituants de la cellule végétale telle que la chlorophylle, les tanins, les flavonoïdes**[15]**. Ces colorants doivent être éliminés de la solution avant la précipitation d'inuline.

Bien qu'il existe plusieurs méthodes d'assurer cette étapetelle que les chromatographies échangeuses d'ions, le charbon actif, nous avons choisis dans notre travail la méthode de purification de la solution d'inuline brevetée par Meuser*et al*.**[262]**etutilisant les sels de magnésium et l'hydroxyde de calcium.Elle permetune décolorationplus efficacede l'extraitpour les raisons suivantes :

- ✓ les réactifs employés, les sels de magnésium et desalcalis,sont de faible coût.
- ✓ le processus estdoncmoins onéreux quel'utilisation d'une chromatographie échangeuse d'ions.
- ✓ les dépensessur les appareilset le tempspour réaliser cetteétape deprocédé sont également particulièrementfaibles.
- ✓ enfin, ce typed'éclaircissementsupprime également les matériauxcausantla turbiditéde l'extrait.

Dans notre travail, le pH de l'extrait obtenu est ajusté à 9.4, la solution obtenue est portée sous agitation constante (250 tr/min), pH constant et une température de 70°C durant toute la période de clarification (1h). Une fois le pH est fixé, une quantité de sulfate de magnésium (2%) est introduite dans la solution, suivie par un volume précis de solution d'hydroxyde de calcium de telle sorte que le nombre de cations de magnésium (Mg^{2+}) présent dans la solution sera le double de celui des ions d'hydroxyde (Mg^{2+}/OH^{-} = 2/1). A la fin de la clarification, la suspension obtenue est filtrée, et le filtrat récupéré subit une 2ème clarification pendant 30 min.

II.3.2.3. Récupération de l'inuline

L'inuline est une fibre soluble dans l'eau, sa solubilité dépend de la température. Kim *et al.***[89]** ont rapporté qu'à 25°C, l'inuline est presque insoluble dans l'eau, mais sa solubilité augmente de manière significative avec la température. Une faible solubilité à basse température est une propriété utile, qui peut être utilisée pour obtenir des précipités à partir des solutions aqueuses d'inuline.

L'inuline contenant dans les solutions aqueuses est sous forme soluble, pour la récupérer deux méthodes sont proposées: la cristallisation à basse température ou la précipitation par solvant.Berghofer*et al.***[263]**ont démontré qu'une partie d'inuline se précipite sous forme de

poudre ou cristallise sous forme de pâte à partir d'une solution aqueuse, lorsque la température est diminuée de 95 à 4°C et tenue constante à 4°C pendant 30h. Le précipité est ensuite séparé de la solution par filtration puis séché par pulvérisation pour obtenir une poudre.Lòpez-Molina *et al.***[15]**ont optimisé la précipitation d'inuline à basse température en choisissant le temps et la température de précipitation ainsi que la vitesse et le temps de centrifugation comme variables à étudier. Les résultats montrent une relation proportionnelle entre la masse d'inuline précipitée et le temps de précipitation, et une relation inversement proportionnelle entre l'inuline et la température de précipitation, par contre le processus n'est pas influencé par le temps et la vitesse de centrifugation.

Une autre étude sur la précipitation d'inuline a été reportéepar Tonel*i et al*.**[174]**, en utilisant un plan d'expérience factoriel 2^3 composé de 17 expériences. Leurs résultats ont montré une relation inversement proportionnelle entre la quantité d'inuline cristallisée et la température de cristallisation. Les conditions optimales de précipitation d'inuline prouvées par cette équipe, en tenant en considération les interactions entre la vitesse et le temps de centrifugation, sont -24°C, 10000 tr/min et 15 min pour la température, la vitesse et temps de centrifugation respectivement.

L'inuline de haut degré de polymérisation (DP) peut être précipitée en présence d'une forte concentration des solvants organiques (antisolvants) tels quele méthanol, l'éthanol, le propanol, l'acétonitrile et l'acétone. Ce dernier solvant est le meilleur pour garder le DP naturel des carbohydrates, suivi par l'éthanol et le méthanol. La forte puissance de précipitation d'acétone vis-à-vis les polysaccharides revient à sa capacité d'éliminer l'eau d'hydratation de ces biomolécules par la suite leur déshydratation et précipitation **[3].**En plus, l'acétone possède un faible point d'ébullition (56.5°C) ce qui favorise sa récupération par distillation **[57].**En général l'acétonitrile et l'acétone sont plus efficaces par rapport à l'éthanol. Toutefois pour des raisons de sécurité, l'éthanol est considéré comme étant le meilleur choix dans les applications alimentaires**[264]**.

Notre objectif lors de cette étude c'est de récupérer l'inuline de haut DP, le solvant choisi est l'éthanol à cause de sa disponibilité, son faible cout et son efficacité de précipitation. La solution d'inuline purifiée auparavant est refroidie jusqu'à la température ambiante, puis un volume d'éthanol est ajouté à cette solution avec un rapport de 3/1 (volume d'éthanol utilisé égal à 3 fois le volume de solution obtenue). La suspension obtenue est ensuite centrifugée à 6000 tours/min pendant 5min pour séparer l'inuline de solution. Le culot obtenu est récupéré puis séché à l'air libre (Figure II. 8)

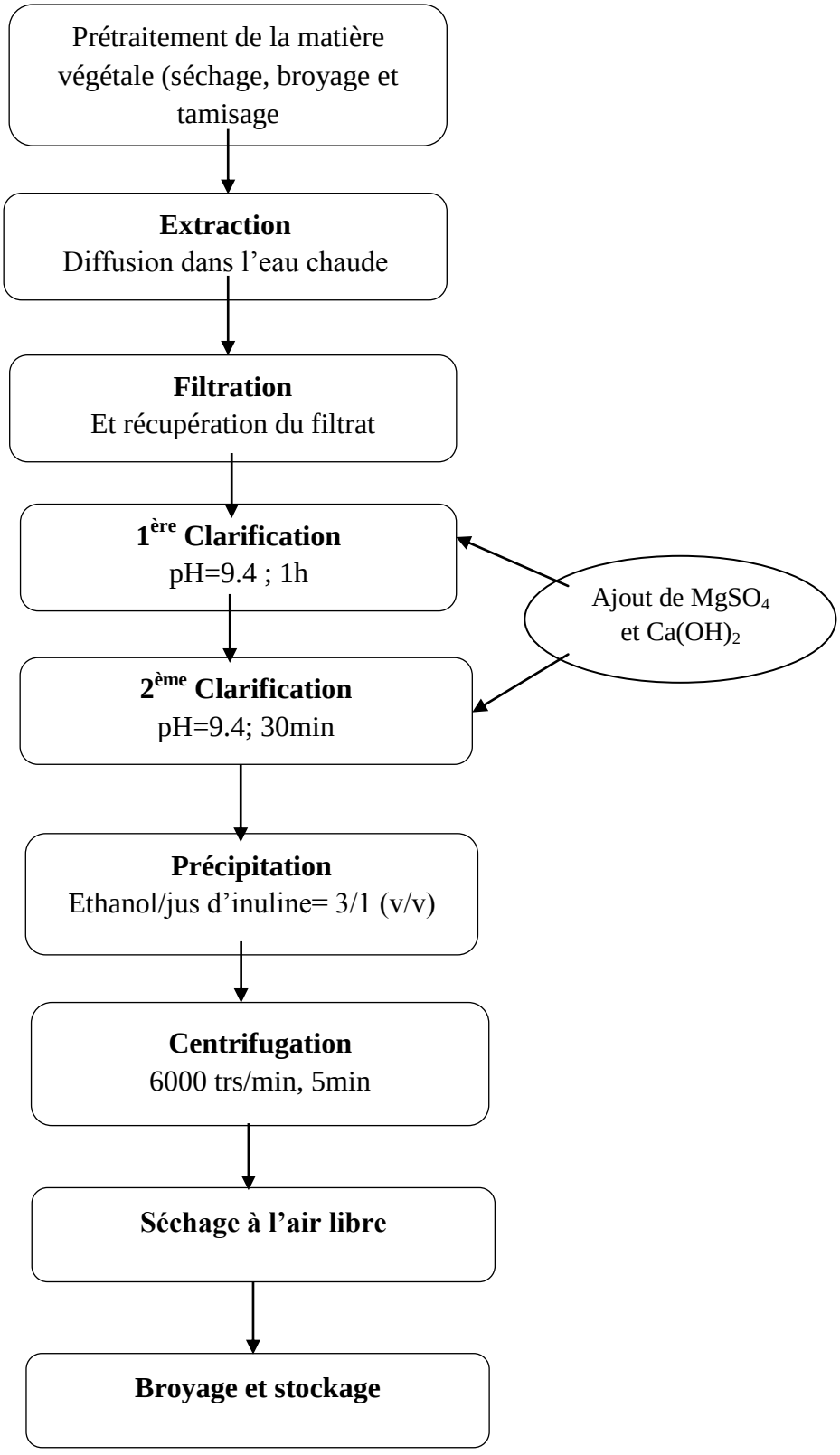


Figure II. 8: Protocole d'extraction de l'inuline

II.4. Planification des expériences de l'extraction de l'inuline

II.4.1. Mise au point du plan d'expérience

Selon des recherches très récentes, l'extraction d'inuline à partir de différentes sources végétales peut être réalisée par plusieurs procédés parmi lesquels on cite l'extraction par chauffage classique (stirringexraction),l'extraction assistée parultrasons(UAE), l'extraction assistée par micro-ondes (MAE) et l'extractionsimultanéedes ultrasons/micro-ondes (UMAE), ces procédés utilisent la méthodologie classique pour l'optimisation des conditions d'extraction.

La méthodologie expérimentale classique vise à modifier un facteur indépendant, tout en maintenant les autres facteurs constants, mais cette méthode est très limitée, car elle demande beaucoup de travail et de temps, et ignore les interactions entre les différents facteurs. Pour éviter cette limitation, la conception d'expériences semble être une technique très prometteuse**[265]**.Elle consiste à choisir la conception de l'expérience optimale en variant tous les facteurs analysés. En concevantune expérience, on obtientdes données plus précisesetdes informations plus complètessur lephénomène étudiéavec un nombre minimald'expériencesetdes faibles coûtsde matériauxpossibles. Le développement deméthodes statistiques d'analysede données, combinéesavec le développementdes ordinateurs, a révolutionnéle travailderecherche et de développementdans tous les domainesdes activités humaines**[266]**.

L'optimisationde tous les paramètrespeut êtrefaite parune conceptionexpérimentalestatistique telle que la méthodologie desurface de réponse(RSM). La méthodologie RSMestune combinaison de procéduresstatistiques et mathématiquesqui possèdent lesavantagesde réduire le nombred'expérienceset de prendreen comptelesinteractions entre les facteurs**[267]**. En utilisantcette conception, il est possible de déterminer les conditionsoptimalesde fonctionnementoude trouverune régionqui satisfait auxspécifications de fonctionnement.

Partant de cette idée, nous avons procédé à l'extraction de l'inuline par un nouveau mode de chauffage tout en optimisant les paramètres d'extraction en adoptant la méthodologie des plans d'expérience, dont le but est d'obtenir de meilleure inuline en termes de rendement et de degré de polymérisation.Dans cette étude, l'extraction de l'inuline est réalisée par deux modes de chauffage différents, le chauffage conventionnel (classique) et l'induction électromagnétique. Afin d'optimiser cette étape, une méthodologie expérimentale a été envisagée en appliquant les surfaces de réponses à l'aide d'un plan d'expérience D-optimal.

Quatre facteurs ont été étudiés simultanément qui sont respectivement: la température d'extraction (X_1), le temps d'extraction (X_2), le rapport pondéral (masse matière végétale sèche/volume d'eau (g/ml)) (X_3) et le mode de chauffage (X_4). Le Tableau II.3résume les différents facteurs et leurs niveaux respectifs. Les réponses mesurées sont : le rendement d'extraction (Y_1), la viscosité de l'inuline obtenue (Y_2) et la solubilité (Y_3).

La quasi-totalité des méthodes d'extraction d'inuline décrites dans la littérature font usage de l'eau chaude comme solvant à une température allant de 55 à 90°C(Tableau II.2). Dans ce travail, nous avons gardé la même zone d'étude (température comprise entre 55 et 90°C), tandis que pour les deux autres paramètres (temps d'extraction et le rapport en poids), une étude préliminaire a été effectuée pour spécifier les bornes du domaine de chaque facteur.

Tableau II.3 Variables indépendantes et leurs niveaux.

Facteurs	**Niveaux**	
	-1	**+1**
X_1 : Température d'extraction (°C)	55	90
X_2 : Temps d'extraction (min)	30	120
X_3 : Rapport pondéral (%)	5	10
X_4 : Mode de chauffage	A(1)	B(2)

(1) : chauffage conventionnel
(2) : induction électromagnétique

La matrice d'expériences du plan D-optimal (Tableau II. 4) est constituée de 25 essais. Ils sont réalisés dans un ordre aléatoire (randomisés) afin de réduire l'erreur systématique que pourraient subir les mesures des réponses. Notons que l'extraction de l'inuline au moyen d'un plan d'expérience a été réalisée seulement à partir des akènes d'artichauts.

II.4.2. Méthodes de calcul des variables de réponses

Les trois variables de réponses choisies dans cette étude sont le rendement, la viscosité et la solubilité de l'inuline.

Calcul du rendement d'extraction d'inuline

Le rendement massique d'extraction représente la quantité d'inuline obtenue par rapport à la masse initiale des akènes des artichauts utilisés. Il est calculé selon la formule (II.2)**[268]**:

$$Y_1(\%) = \frac{m}{m_0} \times 100 \quad \text{(II.2)}$$

Où $m$est la masse de l'inuline obtenue (g), et $m_0$la masse initiale de l'échantillon (g).

- **Mesure de la viscosité**

La détermination de la viscosité des solutions polymériques aqueuses est effectuée à l'aide d'un viscosimètre capillaire de type Ubblohde à 25°C. On prépare une solution mère de concentration 8g.L^{-1} par dissolution de 0.8g d'inuline dans 100ml d'eau distillée, la solution est maintenue sous agitation pendant 15min, puis une série de quatre dilutions est réalisée pour l'obtention des solutions de concentration 1.5, 2, 4 et 6g.L^{-1} respectivement. Le temps d'écoulementdes solutionsest mesuré pour les différentes concentrations. A partir de temps d'écoulement des solutions polymériques (t) et celui de solvant (t_0), la viscosité relative est obtenue selon l'équation (II.3). Les viscosités: spécifique, réduite, inhérente et intrinsèque sont calculées selon les équations (II.4), (II.5), (II.6) et (II.7), respectivement**[251,269]**.

$$\eta_{rel} = t/t_0 \quad \text{(II.3)}$$

$$\eta_{sp} = \eta_{rel} - 1 \quad \text{(II.4)}$$

$$\eta_{red} = {}^{\eta_{sp}}/_{C} \quad \text{(II.5)}$$

$$\eta_{inh} = {}^{\ln \eta_{rel}}/_{C} \quad \text{(II.6)}$$

$$\eta_{intr} = \lim_{C \to 0}\left(\frac{\eta_{sp}}{C}\right) \quad \text{(II.7)}$$

Où C est la concentration du polymère en g.ml^{-1}.

- **Mesure de la solubilité**

La solubilité d'inuline dans l'eau distillée à 25°C est déterminée selon la pharmacopée américaine**[270]**. Au départ, une solution mère d'inuline de concentration initiale de 1g.L^{-1} est préparée. Par la suite, différentes dilutions sont effectuées à partir de la solution précédente jusqu'à l'obtention d'une solution claire dont on notera la concentration correspondante.

Tableau II. 4: Matrice d'expériences du modèle D- optimal

Numéro d'expérience	Combinaison des facteurs à différents niveaux			
	X1 (°C)	X2 (min)	X3 (%)	X4
E1	55	30	6.66	A
E2	55	120	8.33	A
E3	55	90	5	A
E4	55	60	10	A
E5	90	30	8.33	A
E6	90	120	6.66	A
E7	90	60	5	A
E8	90	90	10	A
E9	66.66	30	5	A
E10	78.33	30	10	A
E11	78.33	120	5	A
E12	66.66	120	10	A
E13	55	30	5	B
E14	90	30	5	B
E15	55	120	5	B
E16	90	120	5	B
E17	55	30	10	B
E18	90	30	10	B
E19	55	120	10	B
E20	90	120	10	B
E21	72.5	75	7.5	B
E22	72.5	75	7.5	B
E23	72.5	75	7.5	B
E24	72.5	75	7.5	B
E25	72.5	75	7.5	B

II.4.3. Extraction des inulines à partir des autres sources

Dans cette partie, nous avons procédé à l'extraction de l'inuline à partir des autres sources végétales et fongiques en utilisant les conditions optimales obtenues précédemment (lors de l'optimisation de l'extraction d'inuline à partir des akènes des artichauts).

II.4.4. Effet de la force ionique sur le rendement d'extraction

Dans ce cas, on s'intéresse à l'étude de l'influence de la force ionique sur le temps d'extraction de l'inuline par chauffage par induction électromagnétique (EMIH). Pour cela,l'extraction est effectuée en respectant les mêmes conditions optimales trouvées préalablement (T= 89.49°C, un rapport pondéral =5.01% et l'EMIH commemode de chauffage), et en changeant seulement le temps d'extraction. Au lieu de prendre la valeur optimale trouvée auparavant (t=120min), les expériences sont réalisées à des intervalles de temps réguliers de 15min pendant 120min.

La procédure de l'extraction de l'inuline citée dans la section II.4.2 reste la même, mais en utilisant une solution saline de sulfate de magnésium sept fois hydratée ($MgSO_4$, $7H_2O$, 2%) comme solvant d'extraction à la place de l'eau distillée.

II.5. Caractérisation physico-chimique de l'inuline

Toutes les caractérisations physicochimiques qui viennent par la suite ont été réaliséessur toutes les inulines extraites à partir des quatre sources (artichaut : $\mathbf{IN_A}$, topinambour :$\mathbf{IN_T}$, chicorée :$\mathbf{IN_C}$, et truffes de désert : $\mathbf{IN_{TR}}$) ainsi que pour deux inulines commerciales, l'inuline native : $\mathbf{IN_{Na}}$, et l'inuline de haut degré de polymérisation $\mathbf{IN_{HP}}$.

Rappelant que l'inuline de haut degré de polymérisation est obtenue à partir de l'inuline native par dissolution de 20g d'inuline native dans 100ml d'eau distillée. La solution est laissée sous agitation jusqu'à la dissolution complète après on ajoute un volume d'éthanol égal à 3 fois le volume de solution**[264]**. L'inuline précipitée est récupérée par centrifugation du mélange à 6000tr/min pendant 5min. Le culot est séché à l'air ambiant, puis dans l'étuve à 50°C jusqu'à solidification, après on fait un broyage et on obtient une substance inodore sous forme de poudre de couleur blanche, c'est l'inuline de haut degré de polymérisation (DP>23).

II.5.1. Taux d'humidité

Le taux d'humidité des inulines est déterminé selon les méthodes officielles d'analyses (AOAC). Une masse initiale en polysaccharide (m_0) est introduite dans un creuset en porcelaine taré, puis séchée dans une étuve à 105°C pendant 24h**[261]**. La différence entre les

deux masses pesées $m_0$et m(masse finale après le séchage)représente la quantité d'eau contenue initialement dans l'échantillon étudié. Le taux d'humidité est calculé par l'expression (II.1) citée dans la section II.3.1.

II.5.2. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

Les inulines extraites et commerciales sous forme de poudres fines sont déposées directement sur une plaque de base d'un spectrophotomètre IR (BrukerTensorII) doté d'un dispositif ATRPlatinium(diamant mono-réflexion). Ce dispositif nous a permet d'obtenir directement les spectres IR sans passer par la préparation des pastilles de KBr.

Les spectres IR sont enregistrés dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400et 4000cm^{-1}, avec une résolution de 4cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 10.

II.5.3. Observation par microscopie électronique à balayage (MEB)

Pour visualiser l'influence du mode de chauffage sur les cellules végétales et la libération de l'inuline, une analyse par microscope électronique à balayage Quanta 200 (FEI) opéré sous vide et un voltage de 20KV ont été réalisé sur les akènes des artichauts avant et après l'extraction par les deux modes de chauffage (CVH et EMIH). Les microstructures détaillées de poudre des inulines extraites (dans les conditions optimales) à partir des différentes sources ainsi que les inulines commerciales sont aussi étudiées à différents agrandissement.

II.5.4. Analyse structurale par Diffraction des rayons X (DRX)

La structure des inulines commerciales et extraites a été déterminée qualitativement par une analyse de diffraction des rayons X dans un diffractomètre X'Pert MPD équipé avec un rayonnement Cu-Kα (1.54A) et fonctionnant à 45kV et 40mA. Les analyses ont été effectuées dans une plage de 2θ entre 0 et 120°, avec un pas de 0.02° et 1.2s pour chaque étape.

II.5.5. Identification par chromatographie sur couche mince

La détermination qualitative des inulines est réalisée par chromatographie sur couche mince (CCM) avant et après hydrolyse d'inuline, La phase d'ascension est composée d'un mélange de solvants: butanol- isopropanol-eau-acide acétique (7:5:4:2). Après séchage des plaques, les spots sont visualisés par atomisation du solvant révélateur contenant l'aniline-diphenylamine-acide phosphorique –acétone (1:1:5:50), suivie par un séchage à 80°C pour 10min**[259]**.

Notant que l'hydrolyse acide des échantillons d'inuline est réalisée selon la méthode de Hedge et Hofreiter**[271]**.Une masse de 125mg d'inuline est dissoute dans 5ml de solution HCl(2.5N), le mélange est chauffé dans l'eau bouillante pendant 3h, après 3h la solution est refroidie à la température ambiante puis neutralisée avec le carbonate de sodium (Na_2CO_3)jusqu'à effervescence.

II.5.6. Mesure viscosimétrique- Estimation de la masse moléculaire

Les viscosités intrinsèques des différentes inulines (extraites et commerciales) sont déterminées selon la procédure décrite dans la section II.4.2.

La masse moléculaire moyenne d'un polymère est liée à la viscosité intrinsèque [η] par l'équation de Mark-Houwink (équation II.8):

$$[\eta] = k.M_v^a \qquad \text{(II.8)}$$

Où k et a sont des constantes qui dépendent de couple polymère/solvant à une température donnée.Pour les fractions d'inuline ayant une masse molaire en dessous de 50000g/mol, Kitamura*et al.***[272]**ontdéterminé les valeurs de K et a qui sont de $6.76*10^{-3}$ et 0.71; respectivement.

II.5.7. Dosage des sucres par colorimétrie

La quantification de fructose est réalisée par la méthode de résorcinol,tandis que le dosage des sucres totaux est effectué avec la méthode d'Anthrone**[273]**.

- **Détermination de fructose par la méthode de résorcinol**

A 2ml de solution d'inuline à doser ($25\mu g.ml^{-1}$),on ajoute 1ml de réactif de résorcinol (voir annexe 1) et 7ml de solution diluée d'HCl. Après homogénéisation, le mélange est porté au bain-marie à 80°C durant 10minexactement. Les tubes sont refroidis dans l'eau de robinet pendant 5min. Une coloration rouge est apparue. La lecture des densités optiques est réalisée à 520nm dans les 30min qui suit. Les quantités de fructose en solution peuvent être établies en comparaison avec une gamme étalon de fructose de concentration allant de 10 à $100\mu g.ml^{-1}$.

- **Détermination des sucres totaux par la méthode d'Anthrone**

La méthode consiste au début à une hydrolyse acide de l'inuline. Brièvement, 100mg de l'échantillon est hydrolysé dans 5ml d'une solution HCL (2.5N) pendant 3h puis neutralisé avec carbonate de sodium, le volume est ajusté à 100ml avec l'eau distillée. On prélève un volume précis de la solution déjà préparée et on le complète à 1ml avec l'eau distillée puis on

chauffe la solution dans l'eau bouillantependant 8min après l'ajout de 4ml de réactif d'Anthrone (voir annexe 1), la densité optique est lue à 630nm après refroidissement de la solution dans un bain glacé. La quantité des sucres totaux est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de glucose préparée en suivant les mêmes étapes citées auparavant et avec des concentrations en glucose allant de 10 à 100 $\mu g.ml^{-1}$.

II.6. Modification chimique de l'inuline

L'inuline est un polysaccharide très utilisé dans le domaine alimentaire, cosmétique et pharmaceutique grâce à sa biocompatibilité et biodégradabilité. Cependant, elle possède des faibles propriétés antioxydantes. Dans l'ordre d'améliorer cette propriété, des molécules antioxydantes telles que l'acide gallique et la catéchine ont été greffées récemment sur l'inuline, les dérivés obtenus possèdent simultanément les propriétés de l'inuline et la molécule antioxydante.

Dans cette partie, nous nous intéressons à l'obtention des dérivés d'inuline doués des propriétés antioxydantes par estérification de l'inuline avec un polymère antioxydant qui est le xanthane. Cette modification est réalisée en phase aqueuse homogène et en présence d'un couple d'oxydoréduction H_2O_2/acide ascorbique.L'influence du rapport molaire xanthane/inuline et le temps de réaction sur les propriétés antioxydantes et le comportement rhéologique des dérivés seront ainsi étudiés.

II.6.1. Caractérisation du xanthane

Avant de passer à la modification chimique de l'inuline, une caractérisation physico-chimique du xanthane semble être nécessaire.

II.6.1.1. Analyse par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FTIR)

L'analyse par spectroscopie infra-rouge du xanthane commercial est effectuée en déposant ce dernier sur une plaque de base d'un spectrophotomètre IR (BrukerTensor II) doté d'un dispositif ATR Platinium (diamant mono-réflexion). Le spectre IR est enregistré dans la gamme de nombres d'onde comprise entre 400 et 4000cm^{-1}, avec une résolution de 4cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 10.

II.6.1.2. Mesure viscosimétrique

La viscosité intrinsèque de xanthane est déterminée selon le protocole proposé par Tao et *al.***[274]**en préparant une solution mère de concentration 9.10^{-4} $g.ml^{-1}$ dans une solution de NaCl (0.1M), les concentrations des différentes dilutions variées entre 4.10^{-4} et 8.10^{-4} $g.ml^{-1}$.

II.6.2. Estérification de l'inuline

II.6.2.1. Etude du rapport molaire xanthane/inuline

La modification chimique de l'inuline est réalisée selon la méthode proposée par Spizzirri *et al.***[226]**avec quelques modifications. La réaction est effectuée en milieu homogène et sous un fluxd'azote durant toute la période de modification (24h). Au début, la solution de xanthane(solution 1) de concentrations de 1% a été préparée et laissée au repos pendant 12h.

Une massed'inuline a été dissoute dans 10ml d'eau distillée (solution2), la solution est portée sous agitation pendant 30min. Ensuite 6.42mmol d'acide ascorbique (AAs) et de H_2O_2sont ajoutées à la solution 2, le mélange est porté sous agitation pendant 30min afin d'activer les groupements hydroxyles de l'inuline. Après 30min, 100ml de la solution 1 ont été ajoutée graduellement et le mélange final est laissé sous agitation pendant 23h. À la fin, la réaction s'est arrêtée par l'ajout de l'acétone, le dérivé obtenu est récupéré par filtration. Le lavage de dérivé est réalisé par dissolution de ce dernier dans 100ml d'eau distillée, le mélange est laissé sous agitation pendant 2h pour assurer la solubilisation de l'AAs et le H_2O_2 restant, puis précipité avec 200ml d'éthanol.

La quantité de l'inuline a été variée pour les huit lots de l'inuline modifiés afin d'avoir un rapport molaire entre le xanthane et l'inuline (n_{xant}/n_{inu}) variant de 0.1, 0.3,0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 et 3.

II.6.2.2. Détermination du degré d'estérification

Le degré d'estérification a été obtenu par déconvolution des spectres FTIR des dérivés inuline-xanthane. Cette analyse a été effectuée à l'aide d'un logiciel OPUS software. Le degré d'estérification (DE) est calculé par la formule suivante **[275]**:

$$DE = \frac{A_{ester}}{A_{acide}} \text{(II.9)}$$

Où A_{ester} est la surface de la bande ester, A_{acide}est la surface de la bande acide.

II.6.2.3. Etude de la cinétique d'estérification

Afin d'étudier l'influence du temps de réaction sur le degré d'estérification, nous avons réalisé une estérification de l'inuline industrielle dans les mêmes conditions opératoires choisies précédemment: température ambiante, une concentration en xanthane de 1% et un rapport molaire Xanthane/Inuline de 0.5, et en variant le temps de réaction. Ce dernier a pris les valeurs de 1, 2, 3, 6, 24 et 72h.

II.6.2.4. Estérification des inulines extraites

L'étude de la cinétique du processus d'estérification de l'inuline industrielle à différents paramètres nous a permis de choisir les conditions opératoires optimales pour l'estérification des inulines extraites. L'estérification des inulines : IN_A, IN_T,IN_C, IN_{TR} a été réalisée dans les conditions suivantes : un rapport molaire Xanthane/inuline de 0.5 et un temps de réaction de 24h.

II.6.3. Caractérisation physico-chimique des dérivés obtenus

II.6.3.1. Caractérisation par spectroscopie FTIR

L'analyse FTIR a été réalisée à l'aide spectrophotomètre IR (BRUKER TENSOR II) doté d'un dispositif ATR PLATINIUM. Les spectres FTIR de l'inuline, le xanthane, et les dérivés obtenus sont enregistrés dans la gamme de nombres d'ondes comprisentre 400 et 4000cm^{-1}, avec une résolution de 4cm^{-1} et un nombre de scanne égale à 10.

II.6.3.2. Activité antioxydante par DPPH

La détermination de l'activité antioxydante des dérivés obtenus est réalisée selon la méthode proposée par Curcio*et al.***[225]**avec quelques modifications.100mgde chaque dérivé est dispersé dans 10ml d'eau distillée. Dans un tube à essai, on prélève 2ml d'échantillon à laquelle on ajoute 2ml d'une solution alcoolique de DPPH (100µM), le tube est placé dans un bain-marie à 25ºC pendant 30min, l'absorbance est mesurée avec un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 517nm.

Les mêmes conditions de réaction ont été appliquées sur l'inuline et le xanthane pour évaluer l'interférence du polymère dans l'essai de DPPH. L'activité est représentée par la diminution de l'absorbance du DPPH, et elle est exprimée**en % d'inhibition de radicaux DPPH calculée selon l'équation (II.10) :

$$I\ (\%) = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \qquad \text{(II.10)}$$

Où I (%) est le taux d'inhibition, A_0 est l'absorbance du blanc, A_1est l'absorbance de l'échantillon.

II.6.3.3. Evaluation des propriétés rhéologiques des dérivés

La viscosité apparente est mesurée à l'aide d'un viscosimètre rotatif à des vitesses de rotation allant de 10 à 200trs/min. Les échantillons sont préparés en introduisant une masse

correspondant à une concentration finale de 0.5% en polymère pour chaque échantillon dans une solution d'eau distillée. Les échantillons sont placés sous agitation. Les gels obtenus sont laissés au repos 24h avant la mesure de viscosité.

II.6.4. Valorisation des dérivés inuline-xanthane

II.6.4.1. Préparation des pastilles

À l'aide d'une pastilleuse (Shimatzu S72-120KN), des pastilles ont étépréparées à partir de xanthane et le derivéinuline-xanthane. On met 200mg de la poudre d'hydrogel dans le moule et on applique une force de 70KNpendant 5min, à la fin on récupère les pastilles.



Figure II.9 : Montage de la pastilleuse et les disques de différents hydrogels formés

II.6.4.2. Détermination du taux de gonflement des gels

Les taux de gonflement moyen des hydrogels sont déterminés en utilisant la méthode gravimétrique reportée par Efentakis et Koutlis**[276]**. Les pastilles de masse initiale m_i sont plongées dans 3 milieux différents : eau distillée, solution de pH 1.2 et solution tampon PBS pH 7.4 à 37°C. La cinétique de gonflement a été déterminée en suivant l'évolution du poids des pastilles (m_h) en fonction des intervalles de temps régulier. Le pourcentage d'eau absorbée, ou le degré de gonflement dû au volume du liquide pénétré à l'intérieur du réseau polymérique à chaque prélèvement est donné par la formule (II.11) :

$$TG(\%) = \frac{m_h - m_i}{m_i} \times 100 \qquad \text{(II.11)}$$

II.6.4.3. Détermination du taux d'érosion des hydrogels obtenus

Les gels utilisés s'érodent après un certain temps suivant l'étape d'équilibre après gonflement. Les matrices d'hydrogels gonflées sont retirées et séchées dans une étuves à 80°C pendant 24h, puis refroidies dans un dessiccateur et finalement pesées (m_e). Le taux d'érosion est donné par la formule (II.12) :

$$TE(\%) = \frac{m_i - m_e}{m_i} \times 100 \quad \text{(II.12)}$$

Références bibliographiques

[252]Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V., Cardinali, A., "Globe artichoke: A functional food and source of nutraceuticalingredients", journal of functional foods, 1 (2009) 131-144.

[253]Lombardo, S., Restuccia, C., Pandino, G., Licciardello, F., Muratore, G., Mauromicale, G., "Influence of an O3- atmosphere storage on microbial growth and antioxidant contents of globe artichoke as affected by genotype and harvest time", Innovative Food Science and Emerging Technologies, 27(2015) 121-128.

[254]Bradai, L., Neffar, S., Amrani, K., Bissati, S., Chenchouni, H., "Ethnomycological survey of traditional usage and indigenous knowledge on desert truffles among the native Sahara Desert people of Algeria", Journal of Ethnopharmacology, (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.031

[255]Bradai, L., Bissati, S., Chenchouni, H., "Desert truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and bioecology", Emirates Journal of Food and Agriculture, 26(2014) 425-435.

[256]Kang, K.S., Pettit, D.J., "Xanthan, gellan, wellan, and rhamnan.In Industrial Gum: Polysaccharides and their derivatives", (1993), 3rd edition. Whistler R.L. and Bemiller J.N. Eds., pp341-397.

[257]Garcia -Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., Gomez, E., Xanthan gum: production, recovery, and properties, Biotechnology Advances, 18 (2000) 549-579.

[258] Official Methods of Analysis of the AOAC, The Association of Official AnalyticalChemist, Kenneth Helrich, 15th edition, Virginia, USA.

[259]Lingyun, W.,Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin,Y., Chenggang, C., Tianhua, F., Fan, Z., "Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers", Journal of Food Engineering, 79 (2007)1087–1093.

[260]Saengkanuk, A., Nuchadomrong, S., Jogloy, S., Patanothai, A., Srijaranai, S., "A simplified spectrophotometric method for the determination of inulin in Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.)tubers", European Food Research and Technology, 233 (2011) 609–616.

[261]Park, K.J., de Oliveira, R.A., Brod, F.P.R., "Draying operational parameters influence on chicory roots draying and inulin extraction", Food and Bioproducts Processing, 85 (2007) 184–192.

[262]Meuser, F., Bauer, I., Hellwege, E., Pilling, J., *"Inulin of very high chain length"*, Brevets, publication number WO2007128560 A2, 2007. https://www.google.com/patents/CA2649656C?cl=en

[263]Berghofer, E., Cramer, A., Schmidt, U., Veigl, M., "Pilot-scale production of inulin from chicory roots and its use in foodstuffs, In Inulin and inulin-containing crops", Studies in Plant Science**,** 3 (1993) 77–84.

[264]Ku, Y., Jansen, O., Oles, C.J., Lazar, E.Z., Rader, J.I., "Precipitation of inulins and oligoglucoses by ethanol and other solvents", Food Chemistry, 81 (2003) 125-132.

[265]Lefnaoui, S., Moulai-Mostefa, N., " Investigation and optimization of formulation factors of a hydrogel network based on kappa carrageenan – pregelatinized starch blend using an experimental design", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 458(2014)117-125.

[266]Lazic´, Ž.R., "Design of Experiments in Chemical Engineering, A Practical Guide", (2004), WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, pp 157-443.

[267]Myers, R.H., Montgomery, D.C., "Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments", (2002), 2nd edition, John Wiley and Sons, New York.

[268]Wang, Q., Liu, Y., Cui, J., Du, J., Chen, G., Liu, H., "Optimization of ultrasonic-assisted extraction for herbicidal activity of chicory root extracts", Industrial Crops and Products, 34 (2011) 1429-1438.

[269]Wolff, D., Czapla, S., Heyer, A.G., Radosta, S., Mischnick, P., Springer, J., "Globular shape of high molar mass inulin revealed by static light scattering and viscometry", Polymer, 41 (2000) 8009-8016.

[270]US Pharmacopia, "US Pharmacopeia National Formulary U.S.P.XXIV", NFXIX. Rockville, MD. United states Pharmacopeial Convention Inc., 2000.

[271]Hedge, J.E, Hofreiter, B.T., "Carbohydrate Chemistry 17", (1962), Academic press New York, Edition Whistler R L and Be Miller.

[272]Kitamura, S., Hirano, T., Takeo, K., Mimura, M., Kajiwara, K., Stokke, B.T., Harada, T., "Conformation of (2→1)-beta-D fructan in aqueous solution", International Journal of Biological Macromolecules, 16 (1994) 313-317.

[273]Sadasivam S., Manickam A., "Carbohydrates In biochemical methods", (2005), New Age International (P) Ltd, Publishers, 2nd edition, pp15-16.

[274]Tao, Y., Zhang, R., Xu, W., Bai, Z., Zhou, Y., Zhao, S., Xu, Y., Yu, D.Q., Rheological behavior and microstructure of release-controlled hydrogels based on xanthan gum crosslinked with sodium trimetaphosphate, Food Hydrocolloids, (2015), doi : 10.1016/j.foodhyd.2015.09.006.

[275]Bueno, V.B., Bentini, R., Catalani, L.H., Petri, D.F.S., "Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels", Carbohydrate Polymers, 92 (2013) 1091-1099.

[276]Efentakis, M., Koutlis, A.," Release of Furosemide from Multiple-Unit and Single-Unit Preparations Containing Different Viscosity Grades of Sodium Alginate", Pharmaceutical Development and Technology, 6 (2001) 91–98.

CHAPITRE III

RESULTATS ET DISCUSSION

III.1. Introduction

Après avoir décrit, dans le chapitre précédent, toutes les méthodes appliquées lors de l'étude expérimentale, nous exposons et discutons dans ce chapitre les résultats obtenus et qui sont regroupés dans lescinq parties citées ci-dessous, une comparaison avec les résultats de la littérature est faite à chaque fois que cette comparaison est possible:

- Une évaluation de l'étude statistique réalisée sur les polymères utilisés dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire,
- L'optimisation des conditions opératoires d'extraction de l'inuline en utilisant la méthodologie des plans d'expériences,
- La détermination des caractéristiques et propriétés physico-chimiques des inulines extraites à partir des différentes sources et sous les paramètres opératoires optimaux,
- Les résultats de la modification et la caractérisation des esters inuline-xanthane obtenus,
- Les résultats de la mise au point d'un hydrogel antioxydant ainsi que l'étude de la cinétique de gonflement et d'érosion de cet hydrogel sont rapportés.

III.2. Etude statistique

La réaction de synthèse et de photosynthèse génère chaque année de grandes quantités de molécules naturelles dont les biopolymères glucidiques représentent la majeure partie de cette production. Les macromolécules glucidiques sont aussi très largement présentes chez tous les organismes vivants, constituants la majeure partie des carapaces d'insectes, des parois cellulaires, des bactéries, et se trouvent impliquées chez l'homme et l'animal dans la protection et le bon fonctionnement de certains tissus de l'organisme.Associées à des protéines et à des lipides, elles apparaissent comme le chainon nécessaire à de nombreux processus biologiques. Ces différences d'origine se traduisent par des différences de structures, différences étroitement liées à des fonctions et à des propriétés spécifiques, qui permettent de comprendre l'intérêt économique de ces macromolécules.Avec ou sans valeur nutritionnelle, les biopolymères glucidiques sont les composés de base des industries alimentaires, qui vont affecter les propriétés rhéologiques pour renforcer, modifier, stabiliser la texture des différents aliments.

Depuis les polysaccharides naturels traditionnels jusqu'à ceux issus de la biotechnologie, c'est toute une palette de propriétés physicochimiques qui est ainsi

disponible, en permettant toutes les mises en œuvre envisagées en fonction des applications visées : épaississant, rétenteur d'eau, stabilisant, liant, gélifiant, floculant, etc. Compte tenu de tout ce potentiel, l'usage de ces biopolymères intéresse de nombreux autres domaines d'application, pour lesquels l'utilisation de méthodes de modifications chimiques n'est plus proscrite, ces modifications qui vont encore permettre d'élargir l'éventail des propriétés.

Lors de ce travail, on procèdera dans un premier temps à la sélection d'un biopolymère candidat à l'extraction et la modification chimique. Cette tâche est réalisée en constituant une base de données contenant les travaux publiés durant la périodede2000 à2013. Nous avons retenu les 10polymères naturels, les plus utilisés dans le domaine pharmaceutique et agroalimentaire, notamment, la cellulose, l'amidon, l'alginate, le chitosane, le xanthane, la pectine, le dextrane, le carrageenan, le pullulan et l'inuline.

La classification des articles pour chaque polymère est basée sur l'objectif du travail réalisé par l'auteur, soit il s'agit d'un travail d'extraction et caractérisation de polysaccharide ou d'une modification chimique pour une application visée (pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique ; environnementale ou autres applications). Les moteurs de recherche utilisés lors de cette étape font partiede système national de documentation (SNDL) et sont : Science directe, web of Science et RSC Publishing. Les résultats trouvés sont regroupés dans l'annexe 2 (Tableau A2.1).

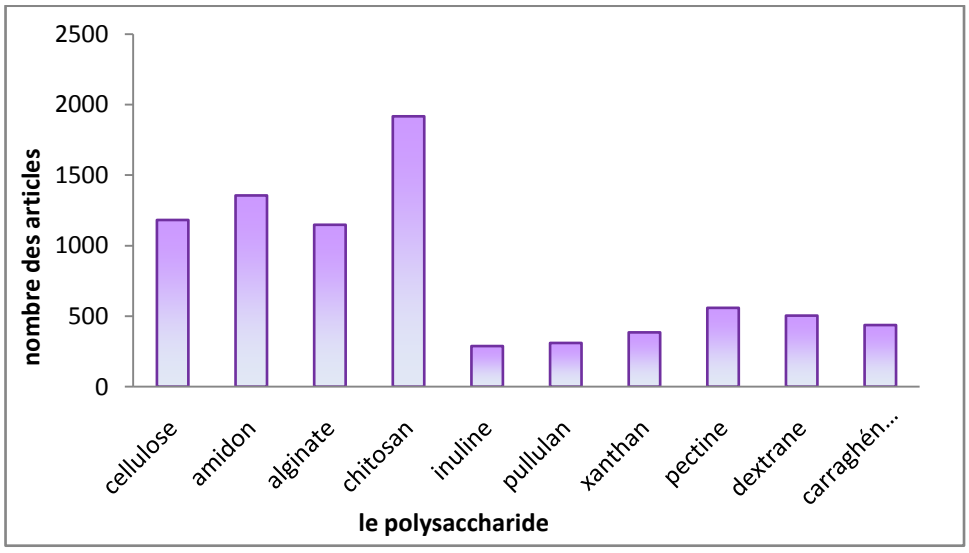


Figure III. 1 : Distribution des polysaccharides selon le nombre des articles publiés

D'après les résultats obtenus de l'étude bibliographique (Figure III. 1), le chitosan est le polymère le plus étudié avec un nombre d'articles dépassant les 1900 articles durant 13 ans suivi par l'amidon (17%), la cellulose(15%) et l'alginate (14%) respectivement (Figure III. 2). Ces polymères sont les plus utilisés dans le domaine pharmaceutique, cosmétique et agroalimentaire avec un nombre d'articles de 1443, 1043, 963 et 769 pour le chitosan, l'amidon, l'alginate et la cellulose, respectivement.

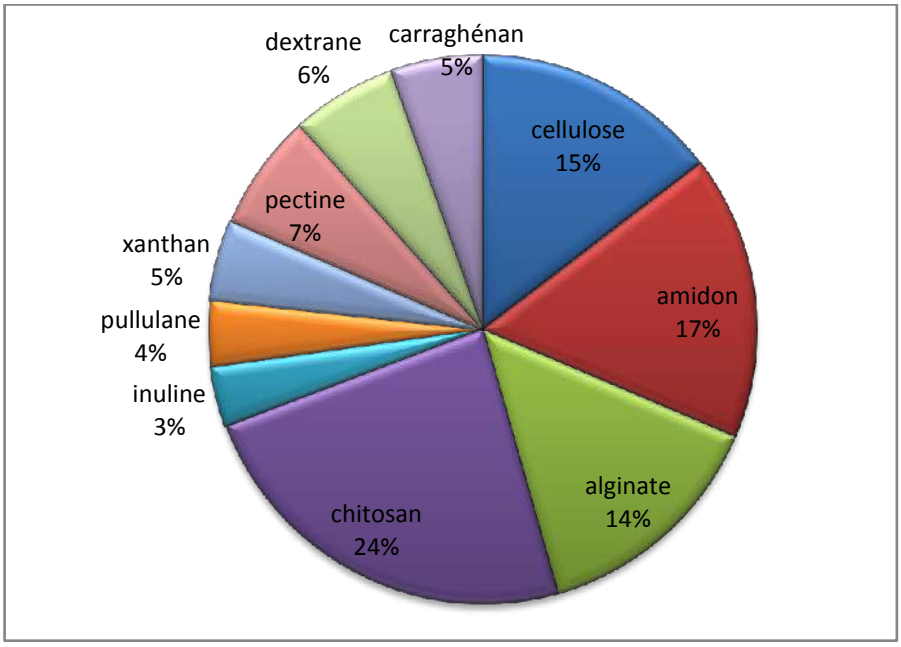


Figure III. 2 : Etude statistique pour chaque polymère

L'inuline est le biopolymère le moins étudié (3.56%) avec un nombre de publications de 288 durant 13ans. Ainsi, 84% de ces publications sont réservés à l'application de l'inuline dont 49% concernent son utilisation dans le domaine agroalimentaire tel que le remplacement des matières grasses dans les produits laitiers (yaourt, fromage, crème dessert…), l'amélioration de la qualité des biscuits et les pains, évaluation de l'effet prébiotique de ce polysaccharide (Figure III. 3). Par ailleurs, 22% est réservé aux applications biomédicales notamment la mesure de la clearance rénale, et le reste (29%) s'intéresseaux applications pharmaceutiques dont on cite l'insertion de l'inuline dans la formulation des différents vaccins ainsi que l'utilisation des dérivés d'inuline possédant des propriétés tensioactives dans la formulation des émulsions.

Le nombre réduit des publications sur l'inuline, par rapport aux autres polymères, représente une opportunité pour nous afin de trouver une modification réalisable au

niveau de notre laboratoire. Pour cela l'inuline est choisie comme étant le meilleur candidat pour notre étude.

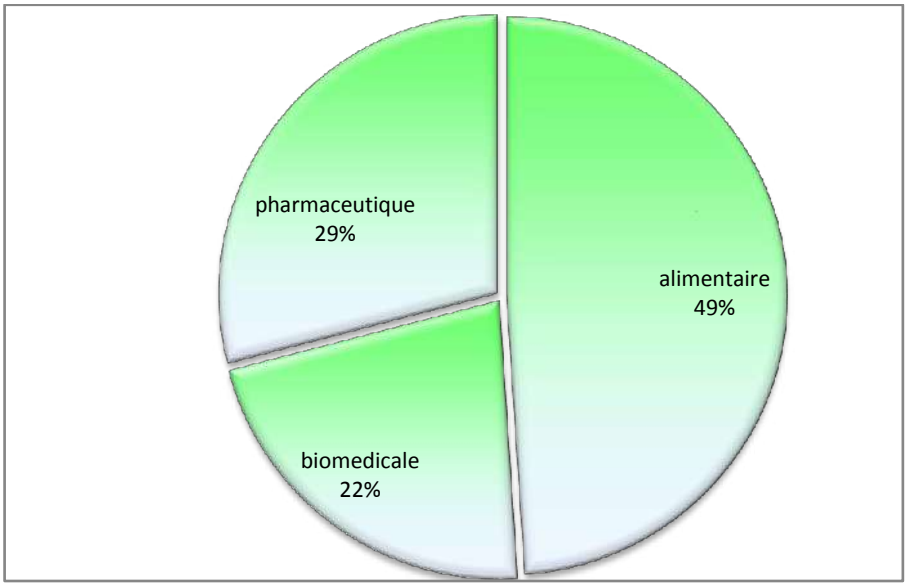


Figure III. 3 : Répartition des applications de l'inuline

III.3. Optimisation de l'extraction de l'inuline

III.3.1. Détermination de taux d'humidité des matières végétales

Le taux d'humiditédes différentes espèces végétales choisies pour récupérer l'inulineest calculé selon les méthodes officielles d'analyse AOAC **[258]**, les valeurs obtenues sont rassemblées dans le Tableau III. 1.

Tableau III. 1 : Taux d'humidité des matières végétales et les truffes de désert

Espèce	Taux d'humidité (%)		Réf.
	Trouvé	Théorique	
Fleur d'artichaut	82.90	81.8-83.7	**[277]**
Les akènes d'artichaut	87.05	/	
Les racines de chicorée	76.87	75.63	**[278]**
Les truffes de désert	77.60	78.23	**[279]**
Le topinambour	80.78	77.2-86.7	**[48]**

Les résultats obtenus sont en accord avec ceux rapportés par d'autres travaux comme ceux de Restuccia*et al.***[277]** pour les artichauts. Les akènes d'artichaut (cœur) qui sont une partie

de la fleur d'artichaut (Figure III. 4) représentant un pourcentage de 32.37% par rapport à la masse de la fleur à base humide et de 24.37% à base sèche.

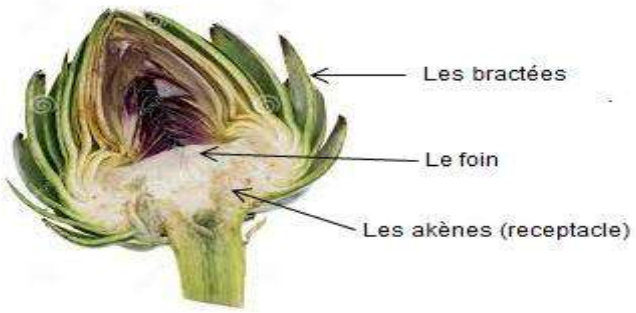


Figure III. 4 : Position des akènes dans la fleur d'artichaut

III.3.2.Spécification du domaine de variation des conditions d'extraction

Afin de préciser le domaine de variation de rapport pondéral (X_3), une étude préliminaire a été réalisée par fixation de température (X_1) et du temps d'extraction (X_2)à des valeurs de 55°C et 30min respectivement, et suivre la variation de X_3 seulement. De même, la spécification du domaine de variation de temps d'extraction (X_2), a été réalisée en suivant les mêmes étapes précédentes, mais en modifiant la valeur de cette dernière et fixant les autres paramètres. Les résultats obtenus sont présentés dans la Figure III. 5.

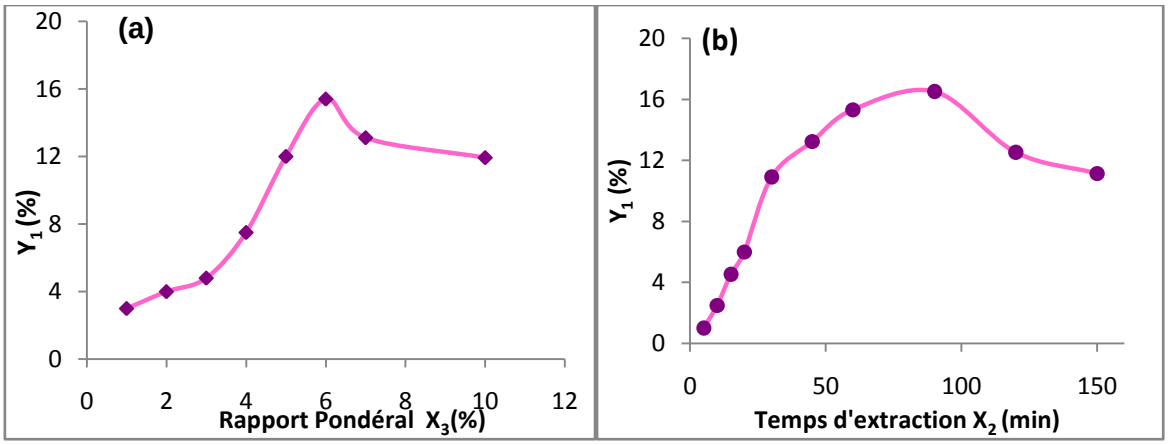


Figure III. 5 : Etude préliminaire à 55°C pour le choix du domaine d'extraction de **(a)** rapport pondéral (X_3), **(b)** temps d'extraction (X_2).

Dans les plans d'expériences, la délimitation des niveaux de chaque facteur est examinée avec attention. Le domaine ne doit pas être trop petit pour que les conclusions aient une certaine généralité. Il ne doit pas être trop grand non plus, car les modèles mathématiques

postulés risquent alors de ne plus être adaptés**[280]**. En se basant sur les profils de variation de ces paramètres(zone de forte variation de laréponse Y_1 en fonction de X_1 ou X_2), le domaine de rapport pondéral a été fixé dans notre étude entre 5 et 10% et celui de temps d'extraction est compris entre 30 et 120min.

III.3.3.Analyse statistique

La matrice d'expériences de l'extraction de l'inuline à partir des akènes des artichauts de type D-optimalest donnée dans leTableau III. 2.

Le calcul des paramètres des modèles polynomiaux de surface de réponse est effectué par la méthode de régression linéaire (MLR), la validation statistique de l'équation polynomiale générée par le plan d'expérience est établie sur la base de l'ANOVA.

En utilisant l'analyse de régression multiple, les réponses Y_1, Y_2 et Y_3 ont été corrélées avec les quatre facteurs de conception en utilisant un modèle polynomial du second ordre selon l'équation (III.1) :

$$Y_{i,j} = \beta_0 + \sum \beta_i X_i + \sum \beta_i X_i^2 + \sum \beta_{ij} X_i X_j \qquad (i, j = 1, 2, 3 \; ou \; 4) \text{ (III.1)}$$

Avec :

i	Facteur 1, 2 ou 3
j	Facteur 4
$Y_{i,j}$	Réponse prédite
β_0	Terme de décalage
β_i	Terme représentant l'effet linéaire
β_{ii}	Terme représentant l'effet quadratique
β_{ij}	Effet des interactions
X_i et X_j	Variables indépendantes codées

Les modèles de régression quadratique sont donnés par les équations (III.2), (III.3) et (III.4) pour le chauffage classique (X_4= A), ainsi que par les équations (III.5), (III.6) et (III.7) pour l'induction électromagnétique (X_4=B).

$$Y_{1A} = 28.12 + 1.62X_1 - 1.14X_2 - 12.32X_3 - 7.54X_4 - 3.52X_1^2 - 1.35X_2^2 + 1.24X_3^2 - 1.45X_1X_2 - 2.70X_1X_3 + 1.55X_1X_4 + 1.03X_2X_3 - 0.32X_2X_4 + 2.08X_3X_4 \quad \text{(III.2)}$$

$$Y_{2A} = 2.31 + 0.26X_1 + 0.14X_2 + 0.27X_3 + 0.10X_4 + 0.41X_1^2 + 0.35X_2^2 - 0.38X_3^2 + 0.13X_1X_2 + 0.38X_1X_3 - 0.44X_1X_4 - 0.18X_2X_3 - 0.24X_2X_4 - 0.05X_3X_4 \quad \text{(III.3)}$$

$$Y_{3A} = 1.46 * 10^{-5} + 3.45 * 10^{-7}X_1 - 9.15 * 10^{-7}X_2 - 1.14 * 10^{-6}X_3 - 2.53 * 10^{-6}X_4 + .93 * 10^{-7}X_1^2 - 3.68 * 10^{-7}X_2^2 - 4.74 * 10^{-7}X_3^2 + 10^{-6}X_1X_2 + 2.31 * 10^{-6}X_1X_3 - 5.95 * 10^{-7}X_1X_4 - 4.59 * 10^{-7}X_2X_3 + 1.83 * 10^{-6}X_2X_4 + 1.14 * 10^{-6}X_3X_4 \text{(III.4)}$$

Tableau III. 2 :Résultats d'extraction par plan D-optimal

Nombre d'expériences	Combinaison des facteurs à différents niveaux				Les réponses		
	X_1 (°C)	X_2 (min)	X_3 (%)	X_4	Y_1 (%)	Y_2 (ml/g)	Y_3 (g/ml)
E1	55	30	6.66	A	18.31	2.803	2e-005
E2	55	120	8.33	A	6.16	2.256	1e-005
E3	55	90	5	A	24	3	1e-005
E4	55	60	10	A	6.26	2.574	1.5e-005
E5	90	30	8.33	A	16.88	1.932	1e-005
E6	90	120	6.66	A	22.02	2.964	1.1e-005
E7	90	60	5	A	32.93	2.065	1.5e-005
E8	90	90	10	A	9.4	3.133	1e-005
E9	66.66	30	5	A	30.26	2.163	1.4e-005
E10	78.33	30	10	A	9.86	2.354	1e-005
E11	78.33	120	5	A	28.66	1.659	2.2e-005
E12	66.66	120	10	A	11.53	1.662	1.8e-005
E13	55	30	5	B	40.4	2.163	1.7e-005
E14	90	30	5	B	55.8	3.543	1.3e-005
E15	55	120	5	B	45	1.659	2e-005
E16	90	120	5	B	44.6	3.814	2.1e-005
E17	55	30	10	B	19.9	2.014	1e-005
E18	90	30	10	B	15.35	4.177	1.9e-005
E19	55	120	10	B	22.6	1.91	2e-005
E20	90	120	10	B	12.7	2.368	1.5e-005
E21	72.5	75	7.5	B	37.2	2.439	1.5e-005
E22	72.5	75	7.5	B	34.33	2.047	1.8e-005
E23	72.5	75	7.5	B	35.93	2.262	2e-005
E24	72.5	75	7.5	B	35.53	2.803	2e-005
E25	72.5	75	7.5	B	35.4	2.256	1e-005

$$Y_{1B} = 28.12 + 1.62X_1 - 1.14X_2 - 12.32X_3 + 7.54X_4 - 3.52X_1^2 - 1.35X_2^2 + 1.24X_3^2 - 1.45X_1X_2 - 2.70X_1X_3 - 1.55X_1X_4 + 1.03X_2X_3 + 0.32X_2X_4 - 2.08X_3X_4 \text{ (III.5)}$$

$$Y_{2B} = 2.31 + 0.26X_1 + 0.14X_2 + 0.27X_3 - 0.10X_4 + 0.41X_1^2 + 0.35X_2^2 - 0.38X_3^2 + 0.13X_1X_2 + 0.38X_1X_3 + 0.44X_1X_4 - 0.18X_2X_3 + 0.24X_2X_4 + 0.05X_3X_4 \quad \text{(III.6)}$$

$$Y_{3B} = 1.46 * 10^{-5} + 3.45 * 10^{-7}X_1 - 9.15 * 10^{-7}X_2 - 1.14 * 10^{-6}X_3 + 2.53 * 10^{-6}X_4 + .93 * 10^{-7}X_1^2 - 3.68 * 10^{-7}X_2^2 - 4.74 * 10^{-7}X_3^2 + 10^{-6}X_1X_2 + 2.31 * 10^{-6}X_1X_3 + 5.95 * 10^{-7}X_1X_4 - 4.59 * 10^{-7}X_2X_3 - 1.83 * 10^{-6}X_2X_4 - 1.14 * 10^{-6}X_3X_4 \text{(III.7)}$$

Une valeur positive des coefficients des équations représente un effet qui favorise l'optimisation par contre une valeur négative indique une relation inverse entre le facteur et la réponse. D'après les résultats des modèles obtenus, il est clair que les trois variables X_1, X_2 et X_3 n'ont pas les mêmes effets sur les trois réponses. X_1 présente des effets positifs sur Y_1, Y_2, tandis que X_3 possède des effets négatifs sur Y_1 et Y_3 et un effet positif sur la réponse Y_2 (Figure III. 6). Le facteur X_4(B) présente un effet positif sur les réponses Y_1, Y_3 et un effet négatif sur la réponse Y_2.

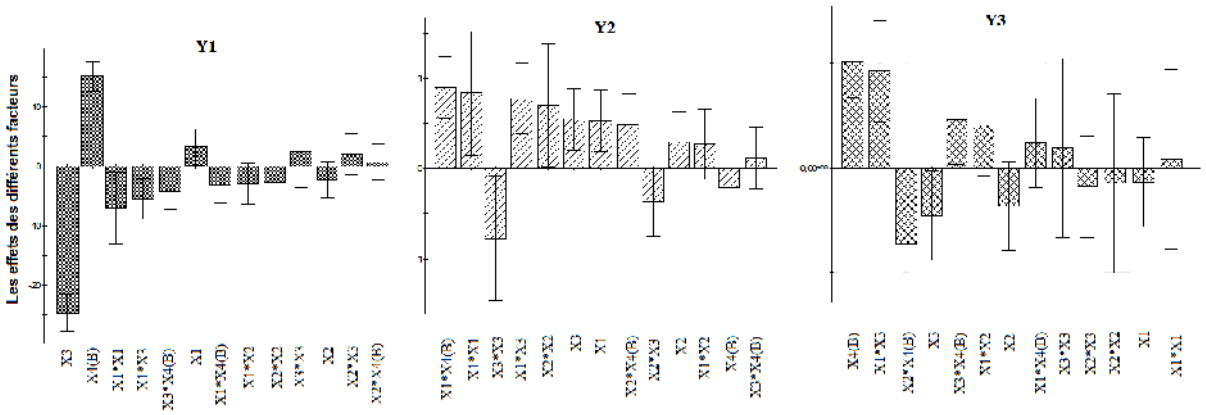


Figure III. 6 : Effets des différents facteurs et interactions sur les réponses

L'effet de X_3 sur la réponse Y_1 est environ sept à dix fois supérieur par rapport à X_1 et X_2, cela veut dire que le rapport pondéral (masse de la matière végétale sèche/volume de l'eau distillée) possède un effet majeur sur le rendement d'extraction.

L'effet d'interaction de X_1 et X_4(B) est favorable aux réponses Y_2 et Y_3, alors que l'effet d'interaction de X_2 et X_4(B) n'est favorable que pour les réponses Y_1et Y_2. Les effets quadratiques de X_1 et X_2 présentent un effet négatif différent sur la première réponse et un effet positif presque semblable sur la 2ème réponse.

La qualité de ces modèles et leur pouvoir de prédiction sont liés aux coefficients de variance. L'analyse de la variance permet de calculer le R^2 (le rapport de la somme des carrés

des réponses calculées à la somme des carrées des réponses mesurée)**[280]**.Les courbes de corrélation linéaire entre les réponses observées et prédites (Figure III. 7-a, III. 7-c, et III. 7-d) donnent des valeurs élevées de R^2 (0.980 pour Y_1, 0.914 pour Y_2 et 0.896 pour Y_3), ce qui indique de bonnes corrélations entre les résultats expérimentaux et ceux prédits par les modèles. Les graphes (b), (d) et (e) indiquent les valeurs résiduelles (la différence entre la valeur observée et la valeur prédite) pour chaque réponse.

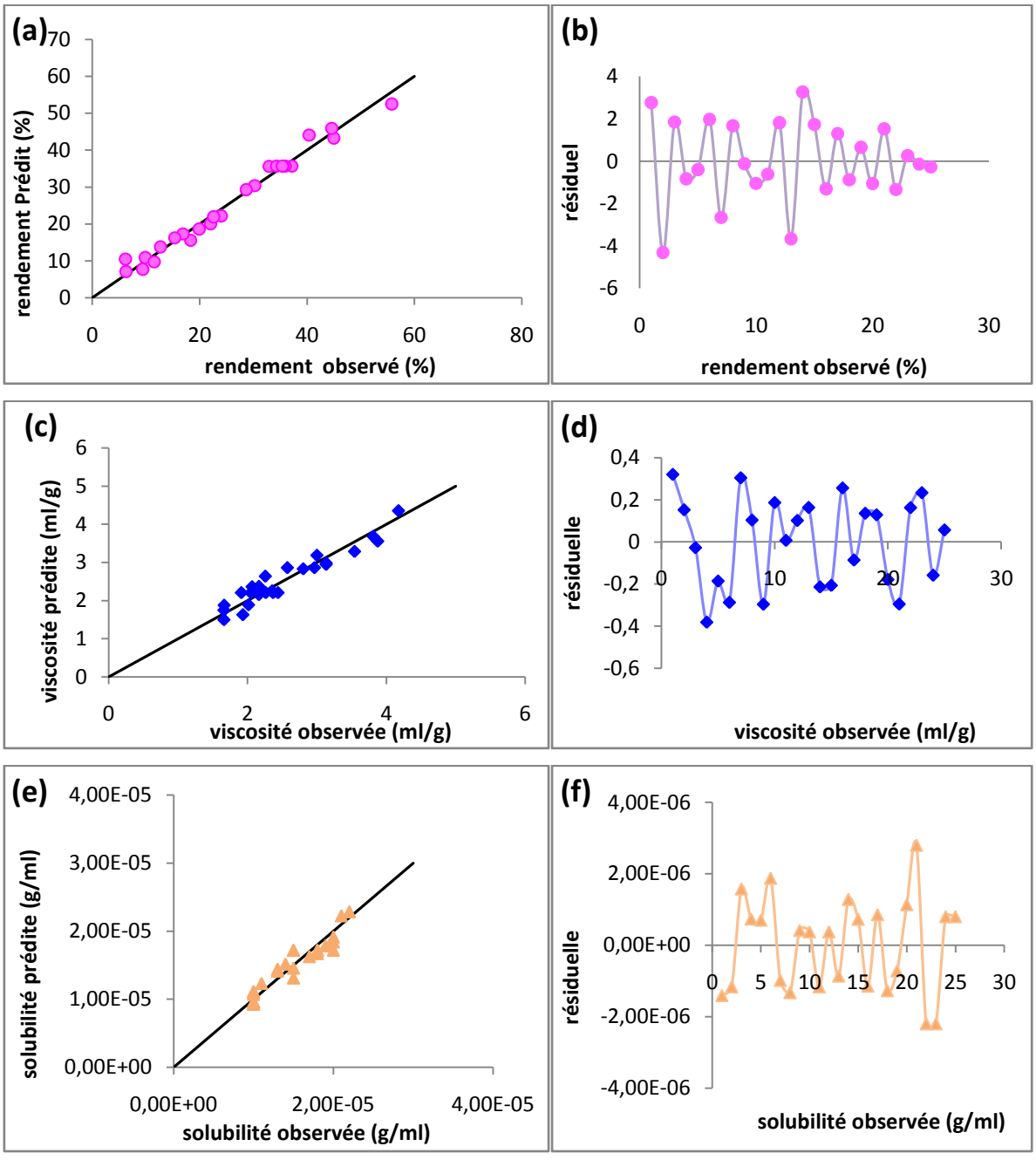


Figure III. 7: Courbes de corrélation linéaire (a, c, e) entre les valeurs prédites et celles expérimentales et les graphes de valeurs résiduelles (b, d, f) des réponses.

La signification statistique de la somme des carrées due à la régression de l'erreur moyenne résiduelle a été testée en utilisant l'analyse de variance (ANOVA). Le Tableau III. 3présente les résultats de l'analyse de variance pour le rendement d'extraction (Y_1), la viscosité (Y_2) et la solubilité (Y_3). Ce tableaucomporte 6 colonnes, la première colonne est réservée aux réponses, les autres comportent respectivement la somme des carrés (SS), le degré de liberté (FD), la moyenne quadratique (MS), la statistique de Fischer (rapport F) et la valeur de P. La moyenne quadratique représente le rapport entre la somme des carrés et le degré de liberté tandis que le rapport de Fischer (F) est égal à la moyenne quadratique du modèle divisée par celle de la valeur résiduelle.Associé au rapport F, la valeur de P permet de quantifier la probabilité de faire une erreur en associant un effet d'un facteur donné. La valeur de P fournit également le niveau exact de la signification d'un test d'hypothèse**[281]**.D'après les faibles valeurs de la probabilité P ($P<0.01$), on constate que les modèles sont considérés comme statiquement significatifs.

Tableau III. 3 :Résultats d'analyse de variance (ANOVA) des réponses

Réponses	Somme des carrés	Degré de liberté	Moyenne quadratique	Rapport F	P
Modèle de rendement, Y_1[(a)] (régression)	4291.91	13	330.147	42.1121	0.000
Valeur résiduelle	86.2369	11	7.83972		
Maque d'ajustement	81.9407	7	11.7058	10.8986	0.018
Erreur pure	4.29628	4	1.07407		
Modèle de viscosité, Y_2[(b)] (régression)	11.5281	13	0.886777	9.05488	0.000
Valeur résiduelle	1.07727	11	0.0979337		
Maque d'ajustement	0.880707	7	0.125815	2.56031	
Erreur pure	0.196563	4	0.0491407		
Modèle de solubilité, Y_3[(c)] (régression)	3.648551e-010	13	2.80655e-011	7.33128	0.001
Valeur résiduelle	4.211e-011	11	3.82818e-012		
Maque d'ajustement	2.331e-01	7	3.33e-012	/	/
Erreur pure	1.88e-011	4	7.4e-012		

[(a)] R^2=0.980 R^2_{adj}=0.957 [(b)] R^2=0.915 R^2_{adj}=0.814 [(c)] R^2=0.897 R^2_{adj}=0.774

Wei *et al.***[282]**ont utilisé la conception composite centrale (central composite design) pour optimiser les conditions techniques d'extraction de l'inuline à partir des tubercules de

topinambour. Les analyses statistiques ont donnéune valeur de R^2 égale à 83.05% et un facteur de probabilité de 0.0126 pour une extraction maximale d'inuline. Dans notre étude, les valeurs obtenues de R^2 et de facteur de probabilité prouvent le bon choix du modèle expérimental utilisé.

III.3.4.Influence du mode de chauffage sur le rendement d'extraction

Le rendement d'extraction d'inuline obtenue dans les différents essais varie entre 6.16et 55.80% comme il est indiqué dans leTableau III. 2. Le meilleur rendement est représenté par l'expérience14 avec une température de 90°C, un temps d'extraction de 30min, un rapport pondéral de 5% et le mode de chauffage utilisé est : EMIH. Tandis que le faible rendement est obtenu par le chauffage classique à une température de 55°C, un temps de 60min et un rapport pondéral de 10%. D'après les résultats représentés sur laFigure III. 8, il apparait évident que le mode de chauffage EMIH donne de meilleures valeurs de rendements d'extraction.

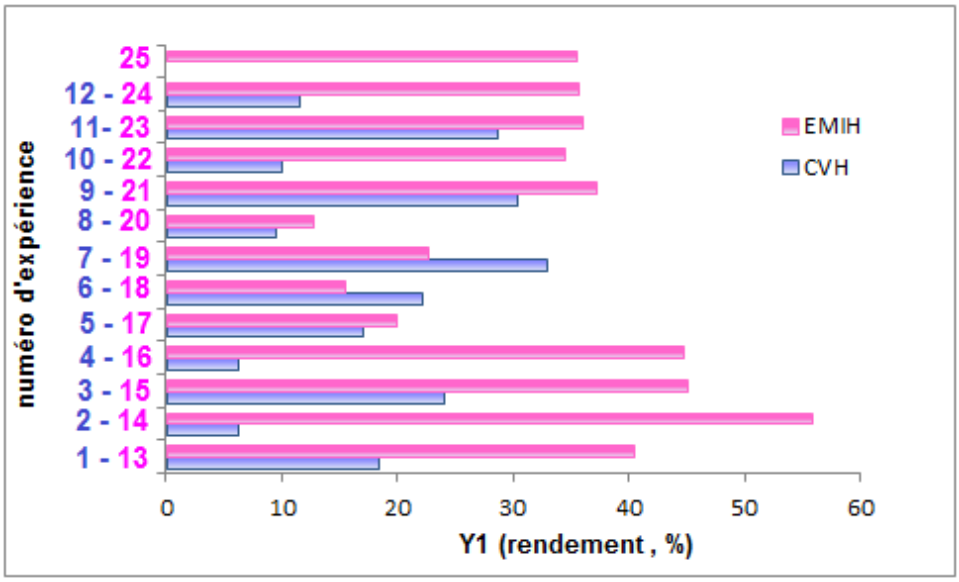


Figure III. 8 :Effet du type de chauffage sur le rendement d'extraction d'inuline

Le chauffage par induction est une technique électrothermique permettant de chauffer des matériaux conducteurs d'électricité, sans contact du matériel avec une source électrique. Tout conducteur (inducteur) parcouru par un courant périodique crée un champ magnétique, lui aussi périodique, qui engendre des courants induits (dit de Foucault) dans un autre conducteur placé dans ce champ. Ce courant induit produit alors de la chaleur par effet de Joule dans le conducteur où il a pris naissance**[283]**. Rivera et Vilarem**[284]**ont réalisé l'extraction des métabolites secondaires à partir de la paille de blé, les racines de garance et des graines de

carvi en utilisant le chauffage par induction électromagnétique directe. Par comparaison avec le système d'extraction conventionnel et dans le cas de l'huile essentielle de carvi, ils ont trouvé que le couplage hydrodistillation/ EMIH donne les meilleurs résultats d'extraction.

Récemment, cette technique a été utilisée au niveau de notre laboratoire par Zouambia*et al.***[285]**pour l'extraction de la pectine à partir des albédos de citrange. La substance extraite a gardé les mêmes propriétés physico-chimiques, mais le temps d'extraction par induction électromagnétique est très court par rapport à celui de chauffage classique.

III.3.5. Analyse des courbes en surface de réponses et en 3D

L'effet des facteurs et leurs interactions sur les réponses peuvent être déduits par simulation.L'étude de l'interaction des deux premier facteurs X_1 et X_2 sur le rendement d'extraction par chauffage classique, présenté par laFigure III. 9-a, donne une relation directe entre la température et le rendement jusqu'à la température de 85°C où la relation s'inverse. L'augmentation de la température engendre l'augmentation de la pression osmotique cellulaire dans la matrice végétale, cette pression provoque l'éclatement des cellules et la libération de contenu cellulaire, ce dernier comporte les vacuoles dans lesquelles l'inuline est stockée**[9]**et par la suite la libération de l'inuline. Quand la température d'extraction dépasse 85°C, le rendement d'extraction diminué, cela revient peut-être à la dégradation des longues chaines d'inuline en petites chaines sous l'effet de température**[89]**, la relation entre le temps et le rendement est indirecte.

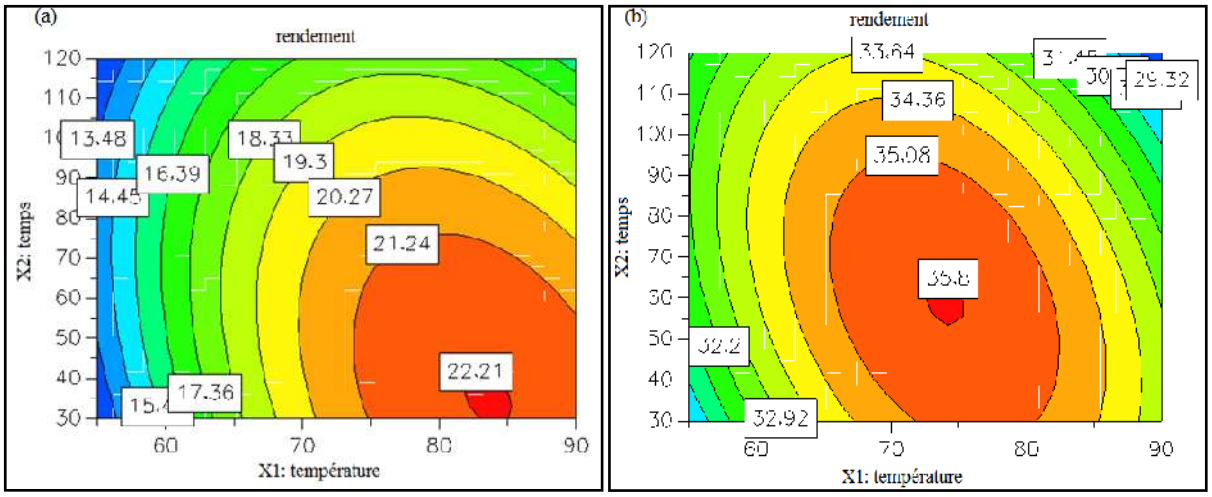


Figure III. 9 :Influence de temps et température sur le rendement (a) par chauffage conventionnel, (b) par induction électromagnétique.

Le rendement optimal trouvé par chauffage conventionnel est de 22.21% pour une température comprise entre 82 et 85°C et un temps d'extraction entre 30 et 40 min.

Dans le cas de l'induction électromagnétique (Figure III. 9-b), la température optimale variée entre 73 et 77°C pour un temps d'extraction compris entre 55 et 65min, le rendement correspondant est de 35.8%.

En comparent les deux procédés, on peut dire que le chauffage par induction électromagnétique (EMIH) est le meilleur procédé qui nous assure la récupération de la majorité d'inuline stockée dans la matrice végétale.

Les courbes de surface de réponse et en 3D ont été déterminées en tenant en considération le facteur X_4 comme étant constant (X_4 est le procédé EMIH) et qui est fixé par le logiciel. L'analyse de la courbe en surface 3D présentée par laFigure III. 10-amontre que le rendement d'extraction augmente avec l'augmentation de la température jusqu'à la valeur de 76°C, après cette valeur la relation devient indirecte, la même analyse est trouvée pour le temps d'extraction où la valeur maximale est de 60 min.

La Figure III. 10-b montre que les valeurs de rendement d'extraction diminuent nettement avec l'augmentation des niveaux de X_3 (rapport pondéral), un faible rapport pondéral (solide/solvant) favorise le transfert de masse de l'intérieur à l'extérieure de la matrice végétale, le rapport qui nous donne le meilleur rendement d'extraction dans notre travail est de 5%. A un rapport égal à 10%, la quantité d'inuline extraite est la plus petite, cela revient peut-être au chargement du milieu en matière végétale (agitation inadéquate du milieu), où le solvant ne mouille pas la totalité de la masse solide et par conséquent, il n'extrait l'inuline qu'à partir de la partie solide humectée.

Les courbes des Figure III. 10-c, d, e et f montrent une relation directe entre la température d'extraction (X_1) et la viscosité de l'inuline obtenue (Y_2), une relation indirecte entre la température et la solubilité de l'inuline extraite (Y_3), et une variation linéaire de la solubilité en fonction du temps d'extraction.

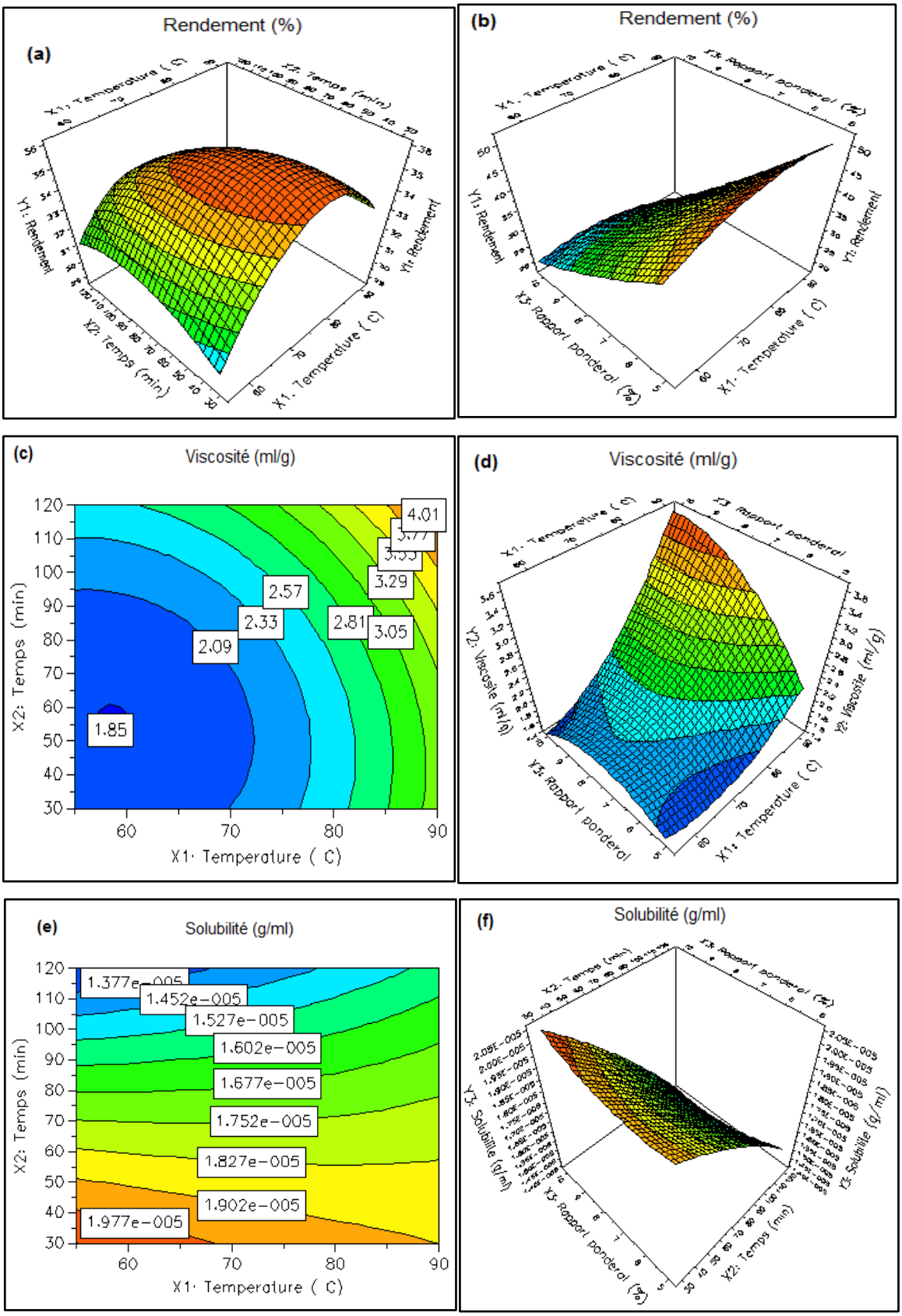


Figure III. 10 : Courbes en surface de réponse indiquant l'effet de : (a) X_1 et X_2 sur le rendement Y_1, (b)X_1 et X_3 sur le rendement Y_1, (c) X_1 et X_2 sur la viscosité Y_2, (d) X_1 et X_3 sur la viscosité Y_2, (e) X_1et X_2 sur la solubilité Y_3, (f) X_2 et X_3 sur la solubilité Y_3.

III.3.6.Sélection et validation des conditions optimales d'extraction

Les conditions optimales d'extraction ont été choisies dont le but de maximiser le rendement d'extraction et la viscosité de l'inuline extraite. Pour cela des contraintes ont été appliquées aux réponses: rendement d'extraction ($50.26< Y_1<54.80$) et la viscosité ($4.21< Y_2<4.49$). Les conditions optimales d'extraction sont données par une température de 89.49°C, un temps d'extraction de 120min avec un rapport pondéral de 5.01% en utilisant le procédé de chauffage EIMH.

La validation de ces conditions est obtenue en réalisant les 8 expériences d'extractions optimales représentées dans le Tableau III. 4. Pour l'ensemble des 8 expériences, les résultats d'évaluation des conditions d'extraction ont été retrouvés dans les limites d'acceptation.

Tableau III. 4 : Validation des conditions optimales d'extraction

Conditions d'extraction ($X_1 : X_2 : X_3 : X_4$)	Réponses	Valeur expérimentale	Valeur prédite	Pourcentage d'erreur / prédiction
85.48:111.63:5: B	Y1 (%)	47.449	48.159	1.474
	Y2 (ml/g)	2.7620	2.7373	-0.902
90:30:6.49:B	Y1 (%)	40.951	40.6342	-0.779
	Y2 (ml/g)	2.758	2.7409	-0.623
89.99:76.84:5:B	Y1 (%)	50.245	50.4408	0.388
	Y2 (ml/g)	2.278	2.2594	-0.823
89.99:119.99:7.61:B	Y1 (%)	28.325	27.8555	-1.685
	Y2 (ml/g)	4.175	4.2335	1.380
89.49:120:5.01:B	Y1 (%)	45.702	45.9874	0.620
	Y2 (ml/g)	3.290	3.2559	-1.047
89.99:76.48:5:B	Y1 (%)	49.958	50.4674	1.009
	Y2 (ml/g)	2.242	2.2538	0.523
89.99:76.84:5:B	Y1 (%)	50.168	50.4408	0.540
	Y2 (ml/g)	2.282	2.2594	-1.000
89.99:119.99:7.61:B	Y1 (%)	28.356	27.8555	-1.796
	Y2 (ml/g)	4.168	4.2335	1.547

III.4. Caractérisation physico-chimique des inulines extraites

Dans cette partie de ce travail, nous nous sommes intéressés à la caractérisation des inulines commerciales (native et de hautes molécularités) ainsi que les inulines extraites à partir des différentes sources végétales et fongiques sous les conditions opératoires optimales trouvées auparavant.

III.4.1.Rendement d'extraction et taux d'humidité des inulines extraites

Le calcul de rendement massique d'extraction est donné par la formule II.2 citée dans la section II.4.2. Les résultats obtenus sont illustrés dans la Figure III. 11.

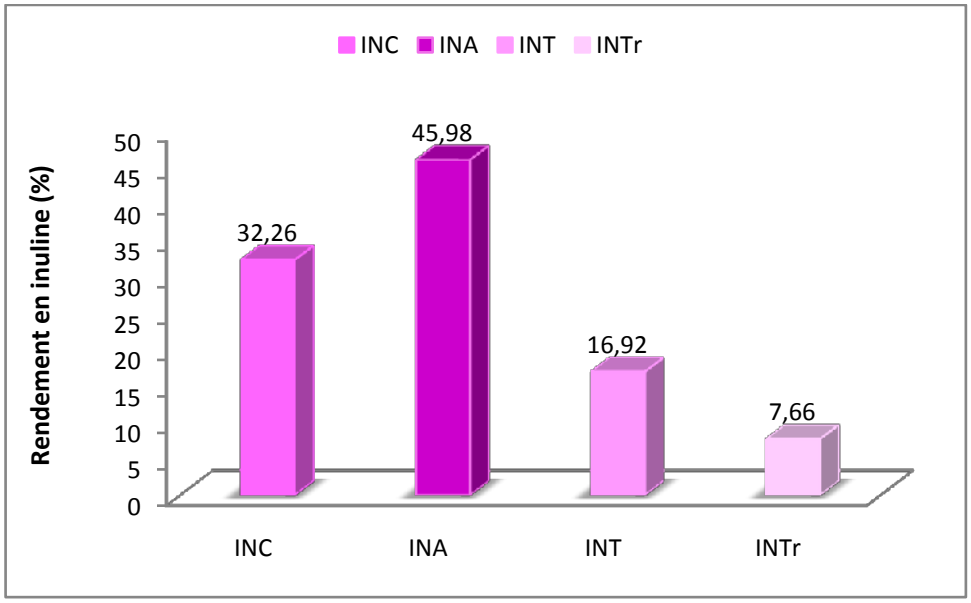


Figure III. 11: Rendement en inuline de haute molécularitéextraite à partir des différentes sources IN_C : inuline de chicorée, IN_A : inuline d'artichaut, IN_T : inuline de topinambour, IN_{Tr} : inuline des truffes de désert.

D'après les résultats obtenus, il apparait que l'artichaut est la source la plus riche en inuline de haute molécularité par rapport aux autres sources appartenant à la famille des astéracées (chicorée et topinambour). Toutefois, il faut signaler que nos résultats sont supérieurs à ceux trouvés par Saengthongpinit et Sajjaanantakul**[55]** (14.29%) ainsi que Gupta *et al.***[286]**(22%) pour l'extraction de l'inuline à partir des tubercules de topinambour et les racines de chicorée respectivement.Cette différence est justifiée d'un coté par la méthode d'extraction utilisée qui est l'induction électromagnétique dans notre étude et le chauffage conventionnel pour les

travaux cités, et d'un autre côté par les conditions de culture, stade de maturité et l'origine géographique de la matière végétale.

Le rendement d'extraction dépend aussi de la variété de l'espèce végétale.Lattanzio et *al.***[252]** ont réalisé l'extraction de l'inuline de haut degré de polymérisation à partir des akènes d'artichauts de plusieurs variétés. Les valeurs trouvées sont schématisées dans la Figure III. 12. Ces valeurs sont inférieures à nos résultats, cela signifié que la variété de Blanc d'Oran est plus riche en inuline par rapport aux autres variétés.

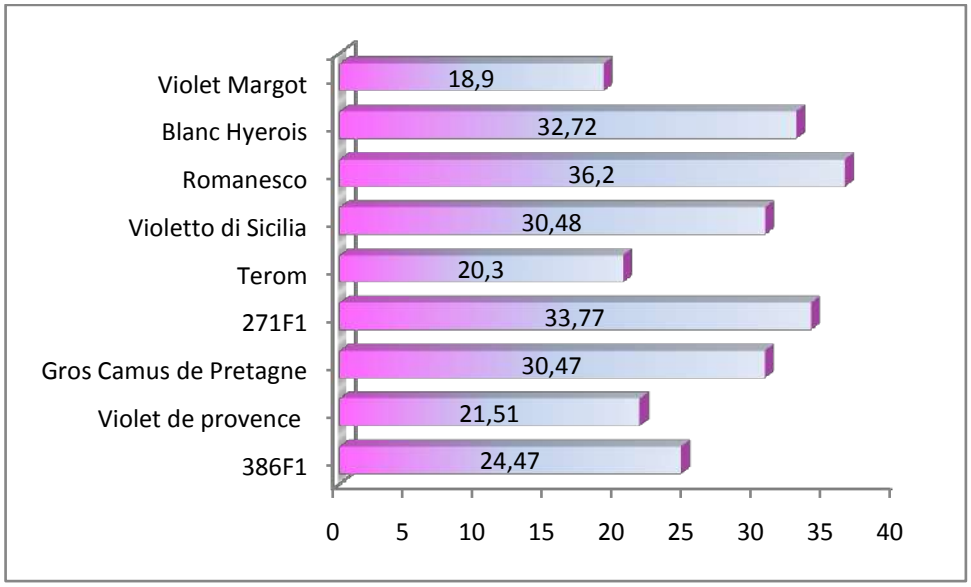


Figure III. 12 : Teneur en inuline de haute molécularité (% par rapport au poids sec) dans différentes variétés d'artichaut

La procédure d'extraction utilisée lors de ce travail ne permet pas seulement d'avoir un bon rendement d'extraction en inuline de haute molécularité, mais aussi de valoriser les déchets de cette extraction notamment le résidu de la matière végétale après filtration qui peut être utilisé comme nourriture pour les animaux,ainsi que le résidu de purification contenant l'hydroxyde de Magnésium ($Mg(OH)_2$),les anions, les protéines dégradées, et les colloïdes qui sont piégés dans des blocs, et qui peut être utilisé comme fertilisant afin d'améliorer la qualité des sols.

Les taux d'humidité obtenus sont donnés par 3.17, 4.7, 5.51 et 7% pour les inulines extraites à partir des truffes de désert, les artichauts, les racines de chicorées et les tubercules de topinambour,respectivement. Ces résultats sont en accord avec les résultats rapportés par plusieurs travaux notamment ceux d'Abou-Arab*et al.***[173]** (5.89%), López-Molina*et al.***[15]** (5%),et Abozed*et al.***[172]** (3.77%). Alors que le travail mené par Bemiller**[287]**donne une

valeur de 13.4% nettement supérieur à nos résultats. Cette différence peut être justifiée par le type de séchage utilisé. Les résultats du taux d'humidité montrent que les inulines sont faiblement hygroscopiques et ce niveau de perméabilité permet une bonne conservation de ces substances.

III.4.2.Analyse structurale

Les structures chimiques des polysaccharides, notamment la composition, le type de liaison glycosidique et les structures de ramification, peuvent être caractérisées par une analyse spectrale, une analyse chimique et par des méthodes chromatographiques.

III.4.2.1. Spectres infrarouges (FTIR) de l'inuline

La spectroscopie FTIR est utilisée pour étudier les vibrations des molécules ainsi que les liaisons polaires entre les différents atomes. La structure des polysaccharides, tels que les types de monosaccharides, les liaisons glucosidiques et les groupes fonctionnels, peut être analysée en utilisant la spectroscopie FTIR.

L'inuline est souvent commercialisée sous forme d'une poudre de couleur varie du blanc au gris tous dépend du degré de purification**[173]**.Les échantillons d'inulines extraites ainsi que ceux d'inulines commerciales (native et de haute molécularité) ont subi une caractérisation par spectroscopie IR, les spectres obtenus sont donnés par la Figure III. 13.

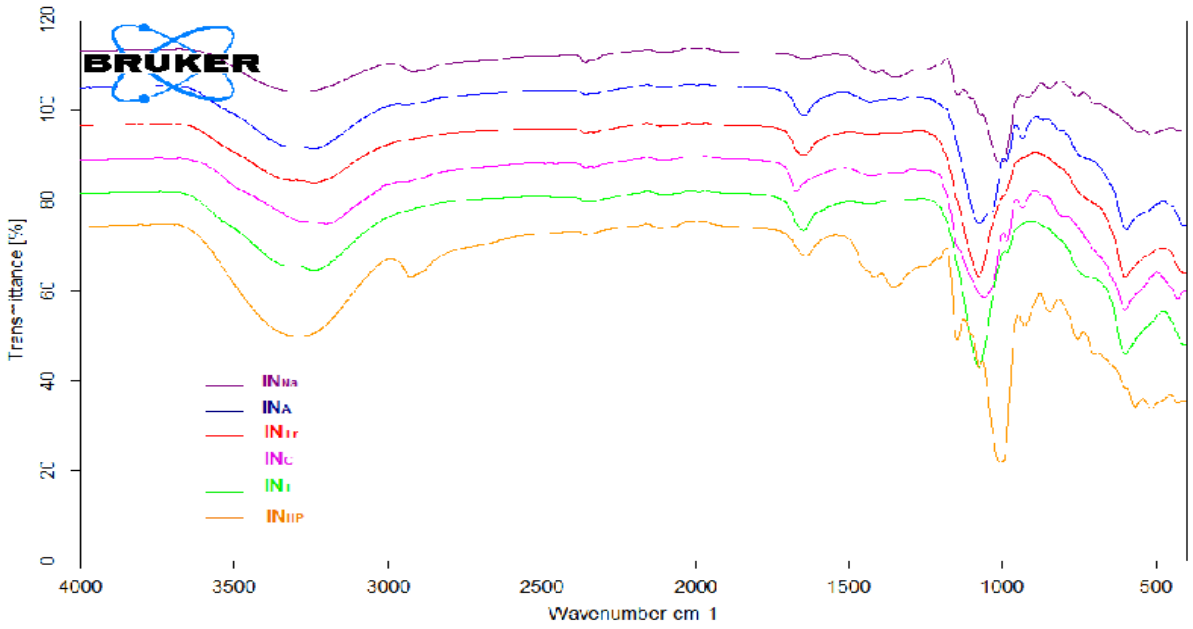


Figure III. 13 : Spectres infrarouge enregistrés pour les inulines d'artichaut (IN_A), de chicorée (IN_C), de topinambour (IN_T), des truffes de désert (IN_{Tr}), native (IN_{Na}), et de haute molécularité (IN_{HP}).

Les spectres obtenus sont proches et présentent des pics à1029, 1145 et 3353cm^{-1}correspond aux liaisons C-O typique des alcools primaire (CH_2-OH), liaisons C-O-C de l'oxygène asymétrique et les groupements hydroxyles (OH) respectivement**[288,289]**.Un pic à 855 cm^{-1} correspond à la structure pyranoside de α-D- glucose, de 1010 à 1100 cm^{-1} deux pics sont observés et ils représentent la formefuranoside**[290](**Figure III. 14**)**. Ces résultats confirment que les substances extraites à partir des différentes sources sont des inulines.

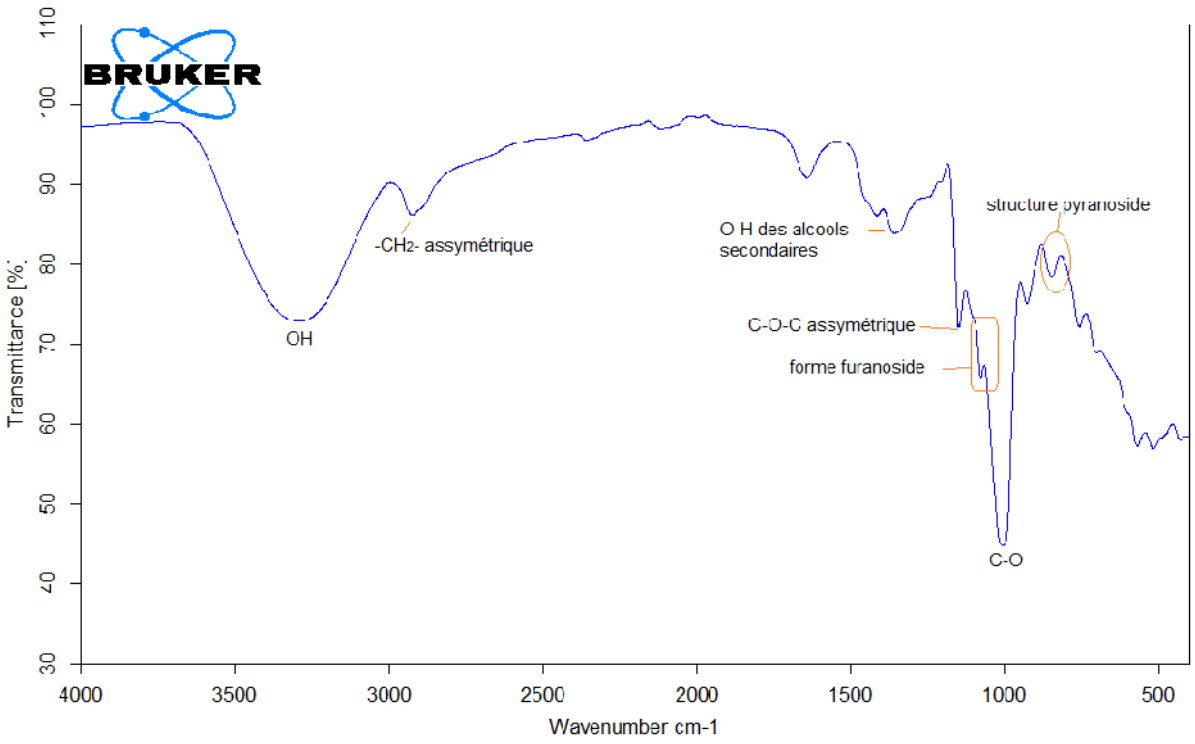


Figure III. 14 : Représentation des pics d'absorption sur le spectre infrarouge de l'inuline de haut degré de polymérisation.

III.4.2.2. Analyse structurale par microscopie électronique à balayage (MEB)

L'analyse structurale des akènes d'artichauts avant et après l'extraction d'inuline par les deux modes de chauffage a été réalisée par microscopie électronique à balayage (MEB) à un facteur de magnification de 600(50µm). Dans le procédé de CVH (Figure III. 15-b), le transfert de solvant extrait partiellement l'inuline par solubilisation avec une faible modification de la microstructure**[170]**. Par contre pour l'induction EMIH, la morphologie de la surface a changée, dans ce cas les molécules de l'eau absorbent l'énergie générée par le courant électrique induit grâce à leur moment dipolaire élevé, ce qui traduit par un chauffage efficace de l'échantillon, ce dernier provoque une dilatation de la paroi cellulaire et par la suite la diffusion rapide de la totalité des molécules d'inuline solubilisées.

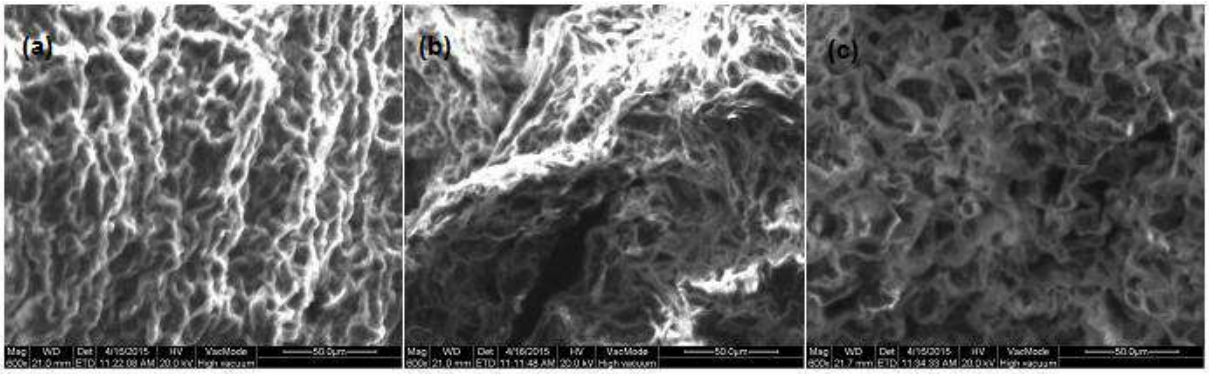


Figure III. 15 : Microphotographies MEB des akènes d'artichaut: (a) avant extraction, (b) après extraction avec CVH, (c) après extraction avec EMIH

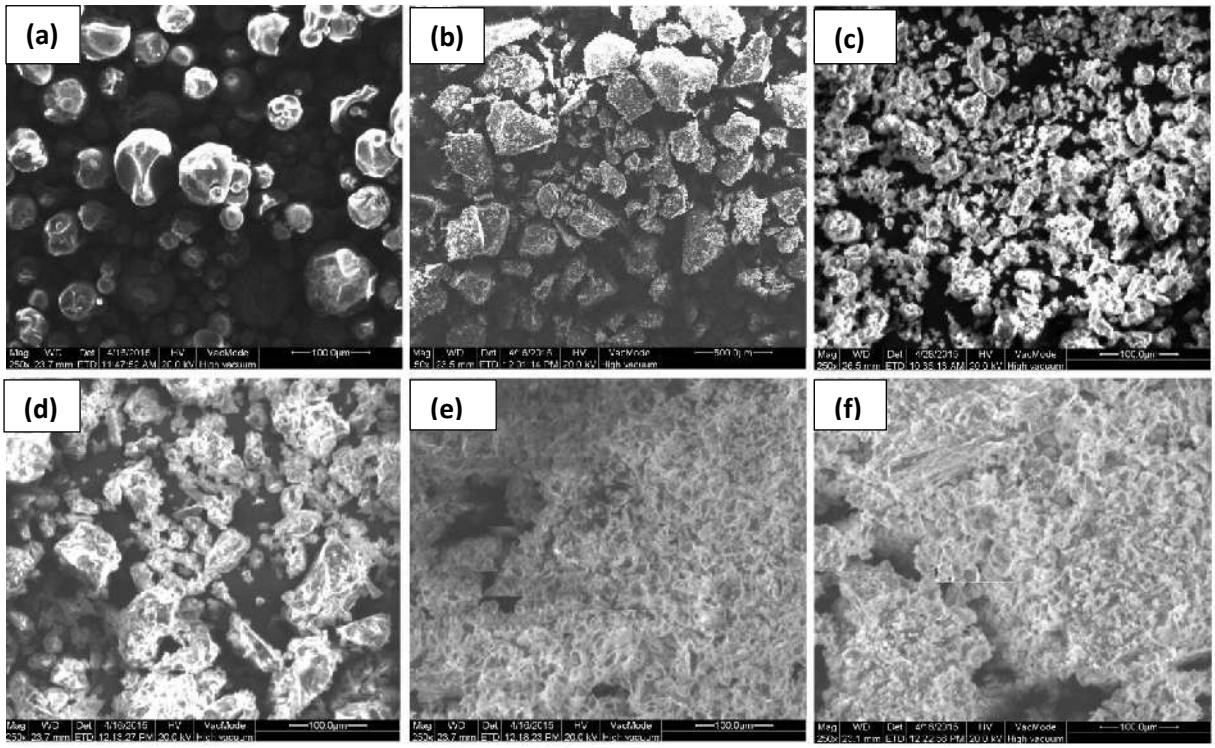


Figure III.16 :Microphotographies MEB des inulines, (a) IN_{Na}, (b) IN_{HP}, (c) IN_{A}, (d) IN_{TR}, (e) IN_{T},(f) IN_{C}

La Figure III.16présente les microphotographies de l'inuline native, des inulines extraites et de l'inuline standard de haut degré de polymérisation, cette dernière est obtenue par précipitation avec l'éthanol d'une solution d'inuline native. L'inuline native (Figure III.16- a) est composée des particules granulaires de forme sphérique et de différentes tailles avec de nombreux agrégats, l'inuline standard de haut degré de polymérisation (Figure III.16-b) présente des cristaux de forme aléatoires et de grandes tailles, tandis que l'inuline extraite à partir des artichauts, et les truffes de désert(Figure III.16-c et d) présent un mélange de

cristallites et des agrégats, cela revient au mode d'obtention d'inuline qui consiste au changement de solubilité de cette substance par l'ajout de l'éthanol, ce qui provoque la sursaturation du milieu en inuline et par la suite sa précipitation rapide**[291]**.Les agrégats sont formés par une dissolution partielle et fusion de quelques cristallites en solution.L'inuline extraite à partir de topinambour et la chicorée (Figure III.16-e et f) présentent des cristallites homogènes par rapport à ceux obtenus dans le cas des artichauts.

III.4.2.3. Cristallinité des échantillons d'inuline

L'avantage d'utiliser la DRX pour la caractérisation des poudres séchées réside dans la quantité de la poudre utilisée et qui est considérée comme représentative de l'échantillon. La Figure III.17montre le diffractogramme de rayon X de l'inuline native. Unpic de diffractionuniquesur une large bandede diffraction estobservé, indiquantla forme amorphede l'inuline native. Ce résultat est en accord avec celui obtenu par Kawai*et al.***[26]**.Les diagrammes de diffraction des inulines extraitesprésentent de nombreuxpics distinctsobtenus à 2θ= 11.91°, 16.07°, 17.37°, 18.15°, 20.15°, 21.31°, 21.89°, 24.69° et 30.41° qui caractérisent la structure semi-cristalline de l'inuline (Figure III.18).André *et al.***[27]**ont rapportédeuxallomorphes cristallinsde l'inuline, une forme hydratéeindexéesur unecellule unitaireorthorhombique et une forme semi-hydratée pseudo-hexagonale (seulement la moitié d'une moléculed'eau par unitéfructosyl).Il a également étéconstaté quela différence entre la forme hydratée etsemi-hydratée ne correspond pas au changement delaconformationdel'inuline,maisplutôtà une variationde la teneur eneau**[29,30]**.

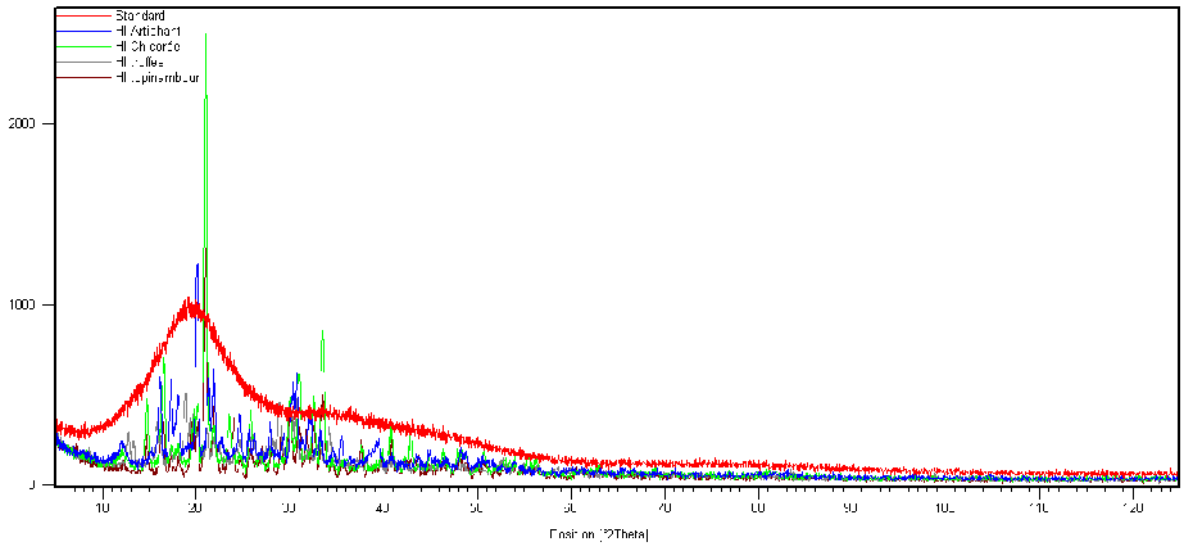


Figure III.17 : Diffractogrammes de rayons X en 1Ddes inulines extraites

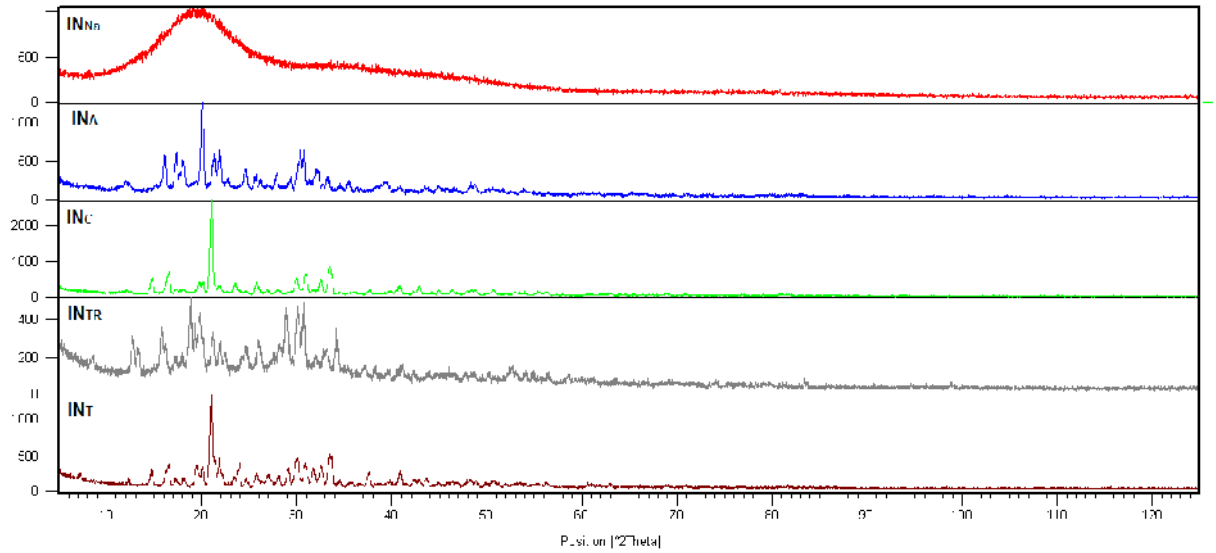


Figure III.18: Diffractogrammes de rayons X en 2D des inulines extraites : inuline native (IN_{Na}), inuline d'artichaut (IN_A), inulinede chicorée (IN_C), inuline des truffes (IN_{TR}), inuline de topinambour (IN_T)

Des études antérieures ont montré que les cristaux d'inuline obtenus à partir des solutions très diluées sont composés principalement de l'inuline de haut poids moléculaire à cause de la ségrégation des molécules de faible et haut degré de polymérisation **[29,292]**. Toutefois, Hébette*et al.***[102]** ont trouvé que la cristallisation à partir des solutions très concentrées d'inuline présente une co-crystallisation des molécules de haut et de faible poids moléculaire.Dans notre étude, la récupération de l'inuline est réalisée à partir des solutions diluées et en utilisant l'éthanol comme solvant de précipitation avec des proportions assurant la récupération uniquement des molécules de haut degré de polymérisation.

III.4.3.Caractérisation des contenus saccharidiques

L'hydrolyse acide d'un polysaccharide permet d'avoir une idée sur les différents oses qui sont impliqués dans la structure. Les sucres neutres ont été identifiés et dosés par chromatographie sur couche mince (CCM) et par colorimétrie, selon les méthodes décrites dans le chapitre précédent.

III.4.3.1. Estimation des sucres totaux par la méthode d'Anthrone

L'inuline est stable à l'hydrolyse dans des systèmes aqueux à la température ambiante et au pH neutre. Cependant, à des températures plus élevées et en présence d'acide, l'hydrolyse de

l'inuline peut devenir importante pour la décomposition éventuelle du polymère en ses unités monosaccharidiquesconstitutives**[185]**.

La méthode d'anthroneconsiste en une hydrolyse acide de l'inuline selon le protocole proposé parPekić*et al.***[293]**, le glucose et le fructose obtenussontdéshydratés en 5-hydroxyméthyl furfural qui forme avec l'Anthrone une dérivée de couleur bleu-verte absorbant à 630 nm. La réaction n'est pas spécifique pour le glucose uniquement, mais elle donne la même couleur avec les autres hexoses, pentoses, disaccharides, polysaccharides, glycosides, carbohydrates, éthers et les esters**[294]**.La courbe d'étalonnage obtenue est donnée par la Figure III. 19.

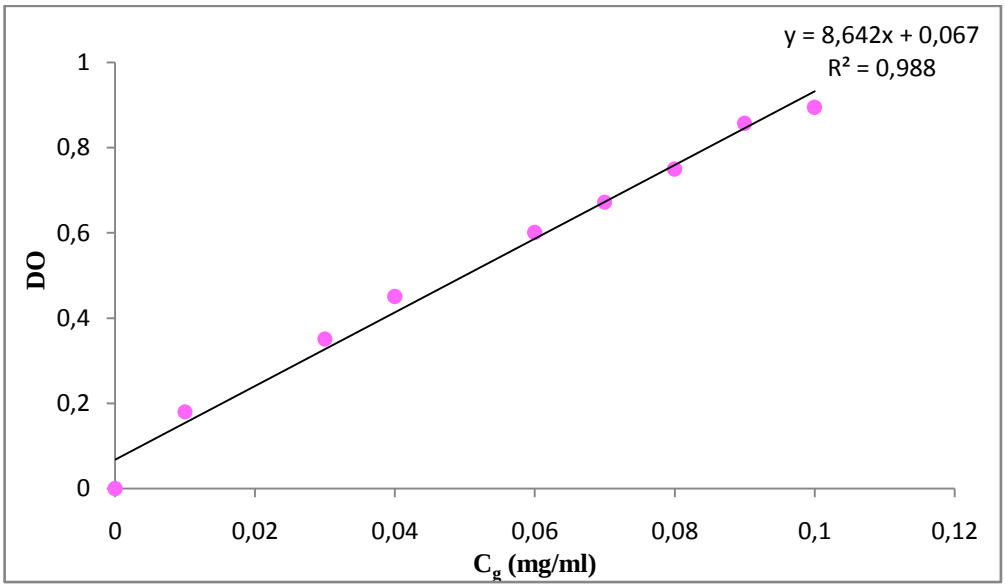


Figure III. 19: Courbe d'étalonnage de la méthode d'Anthrone

D'après la courbe d'étalonnage, la quantité des sucres totauxcontenue dans les échantillons d'inulines extraites (m) peut être calculée en utilisant les Eq.III.8 et Eq.III.9 :

$$DO = 8.642\ C_g + 0.067 \qquad \text{(III.8)}$$

$$m_g = (C_g * 1000)/V_{st} \qquad \text{(III.9)}$$

Où DO est la densité optique lue, Cg (mg/ml) est la concentration de glucose dans les tubes à essai, V_{st} est le volume prélevé de la solution de travail et m_g (mg/100mg) est la masse de glucose (sucres totaux) dans 100 mg d'échantillon.

D'après cette méthode la composition des inulinesextraites en sucres totaux (Figure III. 20)sont dans les normes décrites par la pharmacopée américaine (94-102%), ces valeurs

sontégales à 99.5, 95.16, 96.98, 95 et 95.68mg de glucose/100mg d'inuline pour : IN_{Na}, IN_A, IN_C, IN_T et IN_{TR},respectivement.



Figure III. 20: Résultats expérimentaux de dosage des sucres totaux après hydrolyse des inulines extraites par EMIH

III.4.3.2. Estimation du fructose par la méthode de Résorcinol

Ce dosage se base sur la réaction de Seliwanoff (Figure III.21) décrite en 1887**[295]**. L'hydroxyméthyl furfural formé à partir de fructose dans un milieu acide réagit avec le résorcinol pour donner un produit de couleur rouge absorbant à 520 nm.

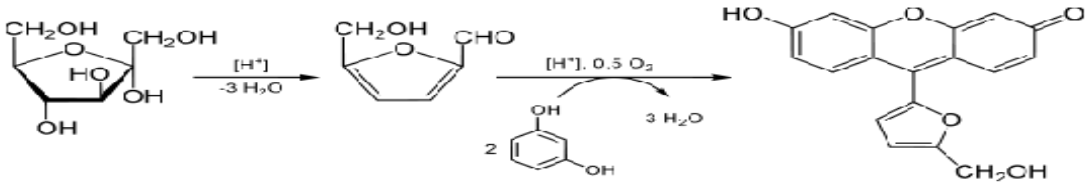


Figure III.21 : Réaction de Seliwanoff.

La courbe d'étalonnage du fructose obtenu est donnée par laFigure III.22. D'après la courbe d'étalonnage, la quantité de fructose contenue dans les échantillons d'inulines extraites (m) peut être calculée par les expressions (III.10) et (III.11), respectivement.

$$DO = 3.322\ C_f + 0.0004 \qquad \text{(III.10)}$$

$$m_f = (C_f * 2000)/V_{ST} \qquad \text{(III.11)}$$

Où DO est la densité optique lue, C_f (mg/ml) est la concentration de fructose dans les tubes à essai, V_{st} est le volume prélevé de la solution de travail, m_f (mg/100mg) est la masse de fructose dans 100 mg d'échantillon.

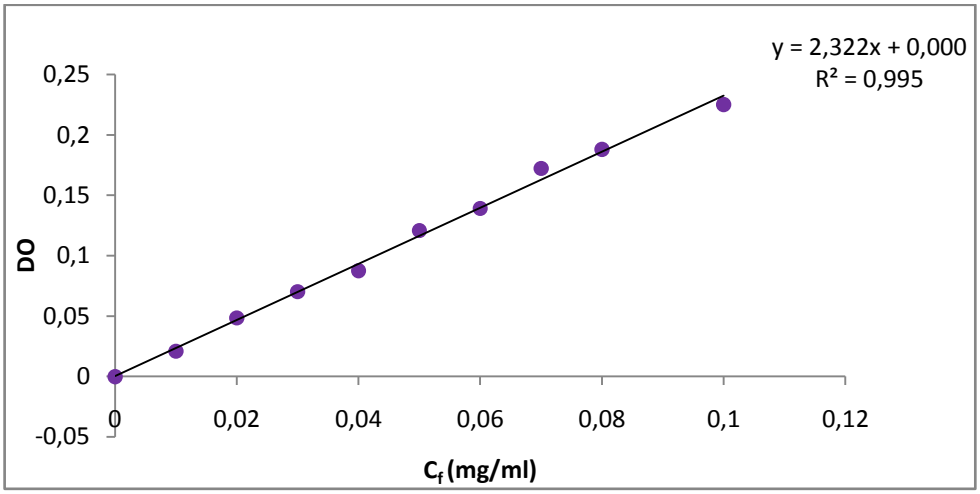


Figure III.22 : Courbe d'étalonnage de fructose déterminée par la réaction de résorcinol.

Les résultats du dosage de fructose par colorimétrie pour les quatre inulines extraites ainsi que l'inuline native (IN_A, IN_T, IN_{TR} et IN_C) sont représentés sur la Figure III.23.

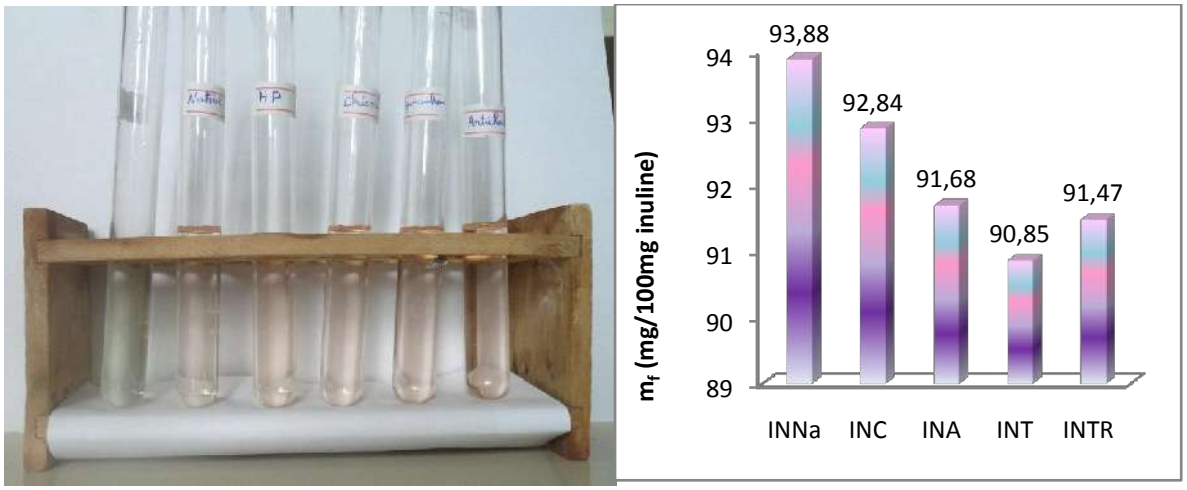


Figure III.23 :Résultats de dosage du fructose contenu dans les inulines extraites par EMIH

Ces résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Vendrell-Pascua*et al.***[296]**(94.31-99.5mg de fructose/100mg d'inuline), cela revient d'un coté à la méthode de dosage de fructose qui est la méthode de résorcinol dans notre cas et la méthode HPLC dans l'étude menue par Vendrell-Pascua*et al*, et d'une autre part, cette différence peut être justifiée par la méthode d'extraction d'inuline et son degré de pureté.

III.4.3.3. Chromatographie sur couche mince

La chromatographie sur couche mince est utilisée pour déterminer la composition qualitative en sucres des inulines extraites. Les résultats d'identification (Figure III.24-a) montrent que l'inuline native est un mélange de saccharose, fructose et glucose, tandis que l'inuline extraite à partir des artichauts par induction électromagnétique (point 5) ne présente aucun point de migration avant l'hydrolyse. Ce résultat signifie que cette substance ne contient pas des molécules de fructose, glucose ou de saccharose libre. Par contre, après son hydrolyse (Figure III.24-b) cette inuline présente un seul point de migration indiquant la présence de fructose et glucose uniquement et l'absence de l'acide galacturonique, d'où l'absence des substances pectiques.

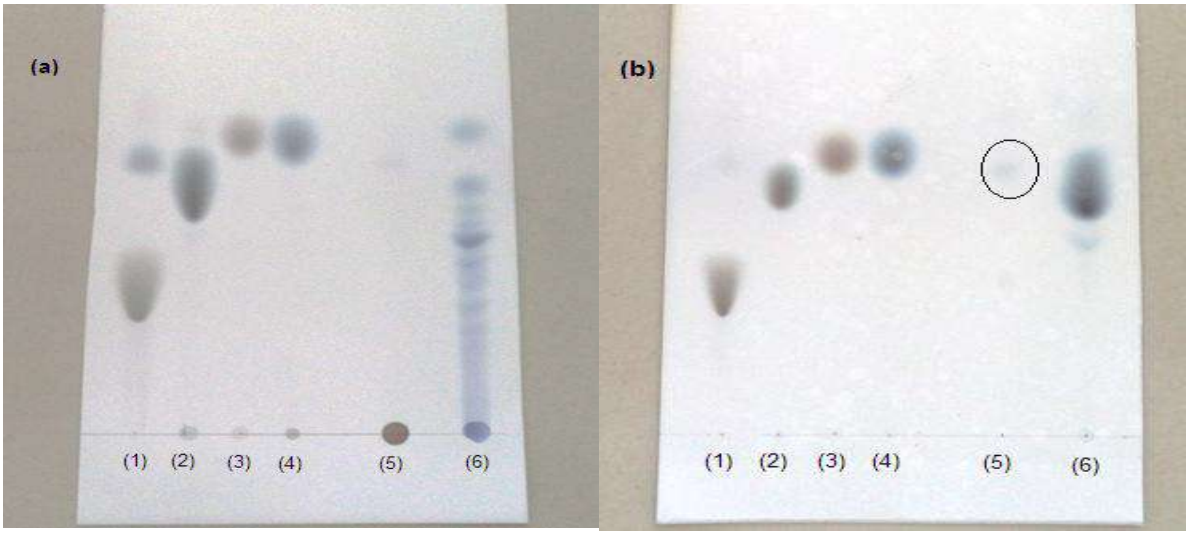


Figure III.24 : Chromatographie sur couche mince de l'inuline (a): avant l'hydrolyse (b): après hydrolyse, (1): acide galacturonique, (2): saccharose, (3): fructose, (4): glucose, (5): inuline d'artichaut, (6): inuline native

Le spot de migration de l'inuline d'artichaut est moins lisible (Figure III.24-b) par rapport aux autres. Ceci peut être dû à la méthode d'hydrolyse, qui provoque la dégradation de fructose sous l'effet de la température et la force d'acidité**[293]**.

III.4.4.Caractérisation moléculaire des inulines extraites

Les représentations graphiques regroupant les résultats typiques obtenus après les mesures viscosimétriques réalisées pour toutes les inulines sont illustrées sur la Figure III.25.

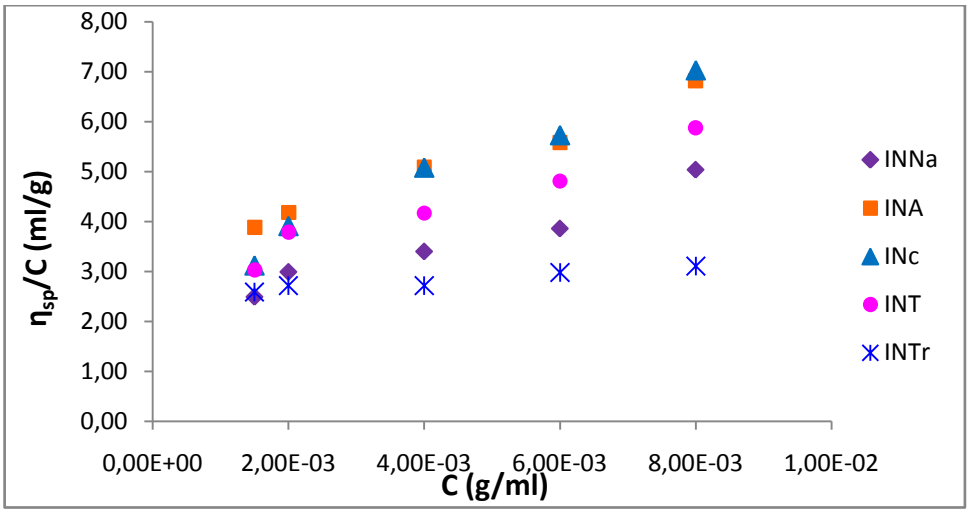


Figure III.25: Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration pour les inulines IN_{Na}, IN_A, IN_T et IN_C

La viscosité intrinsèque prend en considération le volumehydrodynamique occupépar une macromolécule dans le solvant considéré, elle est obtenue par une extrapolation, à concentration nulle, de la viscosité réduite. Les valeurs de la viscosité intrinsèque, la masse moléculaire ainsi que le coefficient de corrélation (R^2) pour chaque type d'inuline sont regroupés dans Tableau III.5.

Le degré de polymérisation moyen en poids de chaque polymère est le rapport entre la masse moléculaire moyenne du polysaccharide et la masse moléculaire du monomère**[262]**. Les résultats obtenus sont résumés dans le Tableau III.5.

Tableau III.5 : Résultats des mesures viscosimétriques

Type d'inuline	[η] (ml/g)	M_V (g/mol)	R^2	DP_W
IN_{Na}	2.061	3153	0.95	17.5
IN_C	2.593	4358	0.97	24.21
IN_T	2.685	4564	0.95	25.35
IN_A	3.25	5989	0.98	33.27
IN_{Tr}	2.497	4132	0.92	23

D'après les résultats de la viscosité intrinsèque, il s'avère qu'il y a des différences de taille (conformation) entre les inulines. Les différences en masses moléculaires viscosimétriquesobservées entre les différentes inulines justifient clairement la différence en matière première utilisée pour l'extraction de ces substances.

Le poids moléculaire de l'inuline d'artichaut calculé est deux fois supérieur à celui de l'inuline native, cela confirme la supposition que l'inuline extraite à partir des artichauts par induction électromagnétique est de haute molécularité (DP>23).Nous constatons également que le degré de polymérisation de l'inuline extraite à partir de chicorée est similaire à celui rapportée par les travaux de López-Molina et *al.* (25)**[15]**.

III.4.5.Effet de la force ionique sur le rendement d'extraction

Dans cette partie, nous nous sommes intéressées à l'étude de l'influence de la force ionique sur le procédé d'induction électromagnétique. Pour cela, l'extraction d'inuline à partir des akènes d'artichauts est réalisée dans les mêmes conditions opératoires optimales en utilisant l'EMIH comme mode de chauffage et la solution de sulfate de magnésium (2%) comme solvant d'extraction à la place de l'eau distillée. Les résultats de l'évolution du rendement d'extraction au cours du temps sont représentés sur la Figure III.26.

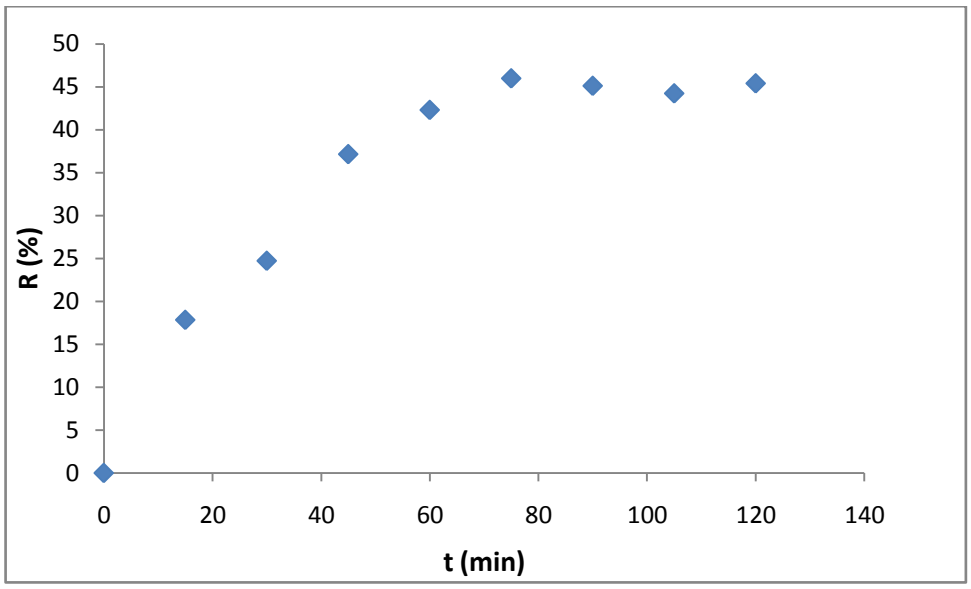


Figure III.26 : Evolution du rendement d'extraction d'inuline au cours du temps

Premièrement, il faut signaler que dans la littérature, il n'y a aucun travail indiquant l'utilisation de chauffage par induction électromagnétique pour l'extraction de l'inuline. Pour cette raison, l'efficacité de ce procédé d'extraction n'a pas été explorée par une étude comparative.L'examen de cette figure montre que le rendement en inuline augmente en fonction du temps jusqu'à atteindre un palier après 75min d'extraction où même une augmentation supplémentaire du temps n'induit pas une augmentation de rendement. Dans les 15 premières minutes, le rendement en inuline augmente considérablement et atteint une

valeur de l'ordre de 17.84%. Par la suite, le rendement augmente progressivement jusqu'à atteindre la valeur de 45.98% au bout de 75min. Au-delà de ce temps, nous remarquons une faible variation du rendement avec un écart de 1.26 à 3.81%.

Le temps optimald'extraction d'inuline trouvé lors de la première partie de notre travail est égal à 120min en utilisant l'eau distillée comme solvant d'extraction. Dans cette partie, l'utilisation d'une solution de sulfate de magnésium a accéléré le processus d'extraction par induction électromagnétique où le rendement maximal a été atteint au bout d'une courte durée (75min) ; ceci est dû à la conductivité élevée de la solution de sulfate de magnésium (20.47ms/cm à 90°C).

Le principe du processus de chauffage par induction assistée par champ magnétique consiste à utiliser la propriété de conductivité électrique des solutions acides ou basiques**[297]**. L'explication la plus probable alors, est que pour les liquides conducteurs (solution de sulfate de magnésium dans notre cas), la mise en route du champ électromagnétique provoque l'agitation des ions présents (Mg^{2+}et SO_4^{2-}). Par conséquent, l'augmentation de la température de la solution aqueuse déclenche un mouvement avec les parties solides et ensuite commence l'ébullition. Durant l'extraction, l'ébullition est homogène dans tout le volume du réacteur. Cette spécificité d'homogénéité favorise ainsi une plus grande vitesse d'extraction. Ceci peut être traduit par la destruction rapide de la cellule végétale et conduit à la libération facile de l'inuline contenue dans les vacuoles.

III.5. Modification chimique des inulines

Nous rappelons que dans cette partie, nous avons procédé à la modification des inulines extraites à partir des différentes sources afin d'avoir des dérivés possédant des propriétés antioxydantes. Les réactions d'estérification ont été toutes réalisées dans un milieu homogène et sous différentes conditions opératoires (temps et rapport molaire xanthane/inuline) afin d'optimiser la réaction d'estérification. Par la suite, les dérivés obtenus ont subi des caractérisations physico-chimiques appropriées notamment l'estimation du pouvoir antioxydant et la détermination des propriétés rhéologiques.

III.5.1.Caractérisation du xanthane utilisé

L'estérification de l'inuline a été réalisée en présence d'un polymère antioxydant qui est le xanthane, pour cela une caractérisation physico-chimique de ce dernier est nécessaire dont le but de déterminer sa structure, sa viscosité et d'estimer son poids moléculaire.

III.5.1.1. Caractérisation par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier

Le spectre FTIR duxanthane (Figure III.27) présente un large pic d'absorption entre 3200-3550cm^{-1} indiquant la présence des groupements hydroxyles (OH), d'autres pics apparaissant autour de 2918, 1605, 1618, 1402 et 1021cm^{-1} et qui sont attribuées aux liaisons –CH_2, le groupement –C=O– de l'acide pyruvique, la vibration de liaison asymétrique C=O, la vibration symétrique de la liaison C=O de l'ion carboxylate (–COO–) et la liaison C–O des alcools primaires, respectivement**[298,274]**. Le pic caractéristique à 1714cm^{-1} des groupements carbonyle de –COOH a également été observé, indiquant la coexistence de structure du sel (–COO^-) et acide (–COOH) en même temps.

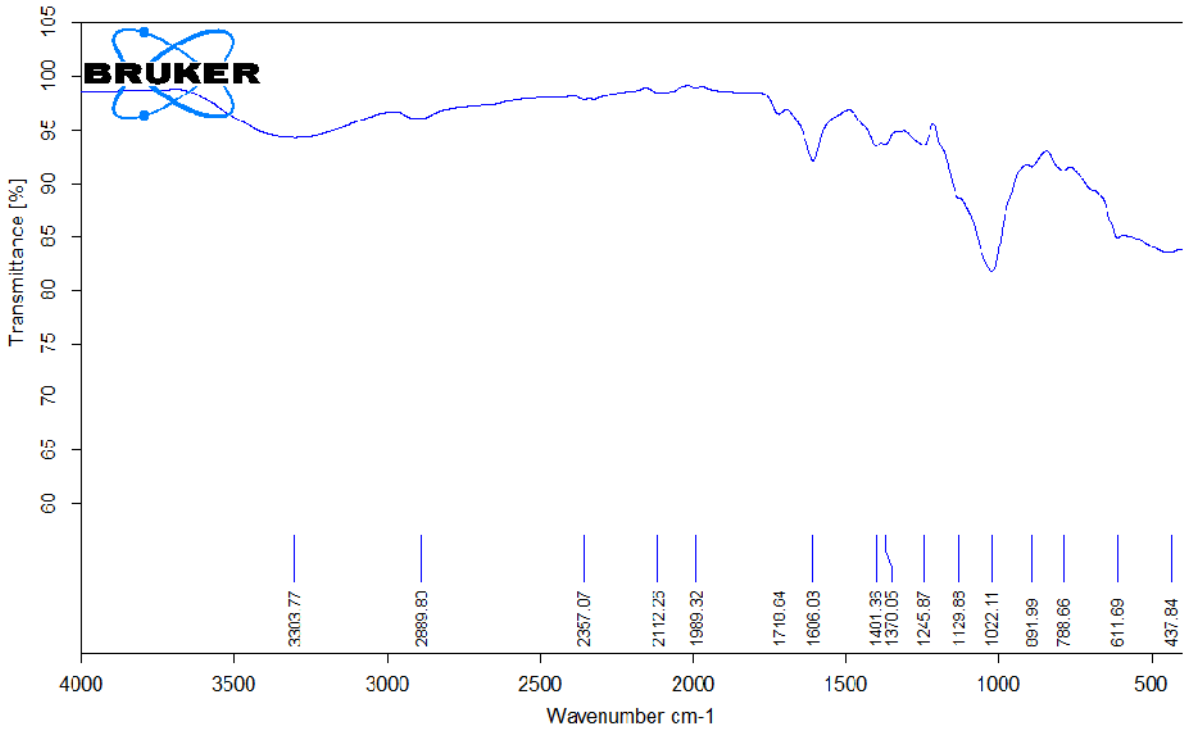


Figure III.27: Spectre FTIR de Xanthane

III.5.1.2. Caractérisation moléculaire

La viscosité intrinsèque duxanthane (553.64ml/g) est déterminée selon le protocole proposé par Tao et *al.***[274]**. Les résultats obtenus sont donnés par la Figure III.28. Le poids moléculaire viscosimétrique du xanthane calculé est égal à 6.10^{5}g/mol en appliquant l'expression III.12 de Mark-houwink. La valeur calculée est inférieure à celle trouvée par Tao *et al.***[274]**(1,43.10^6 g/mol).

$$[\eta] = 1{,}10 \times 10^{-4} M_w^{1{,}16 \pm 0{,}03} \quad \text{(III.12)}$$

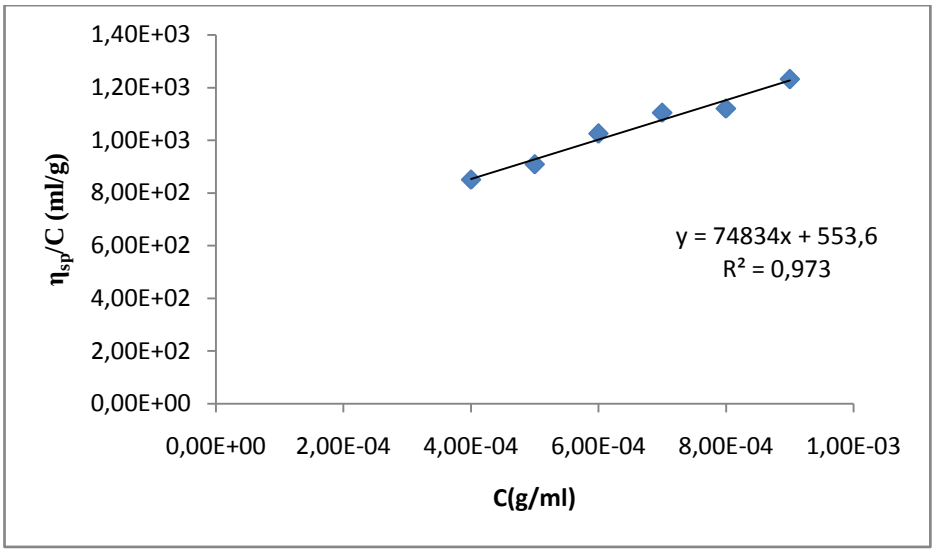


Figure III.28 : Variation de la viscosité spécifique en fonction de la concentration de xanthane

III.5.2. Optimisation de la modification chimique de l'inuline industrielle

Les conjugués inuline-xanthane (IN-X) ont été synthétisés par procédé de greffage induit par des radicaux libres en utilisant le couple redox acide ascorbique (AAs)/péroxyde d'hydrogène (H_2O_2) comme système initiateur biocompatible et hydrosoluble.

En comparaison avec les systèmes initiateurs classiques (c'est-à-dire les composés azoïques et les peroxydes), qui nécessitent des températures de polymérisation élevées pour assurer leur décomposition rapide, les initiateurs redox présentent plusieurs avantages. Tout d'abord, ce type de système ne génère pas de produits de réaction toxiques; de plus, il est possible d'effectuer les procédés de réaction à des températures plus basses, en réduisant les risques de dégradation des antioxydants.

Le mécanisme d'interaction entre les deux composantes du couple redox implique l'oxydation de l'acide ascorbique par le H_2O_2 à la température ambiante avec la formation du radical ascorbate ainsi que le radical hydroxyle qui initie la réaction (Figure III.29) **[225]**.

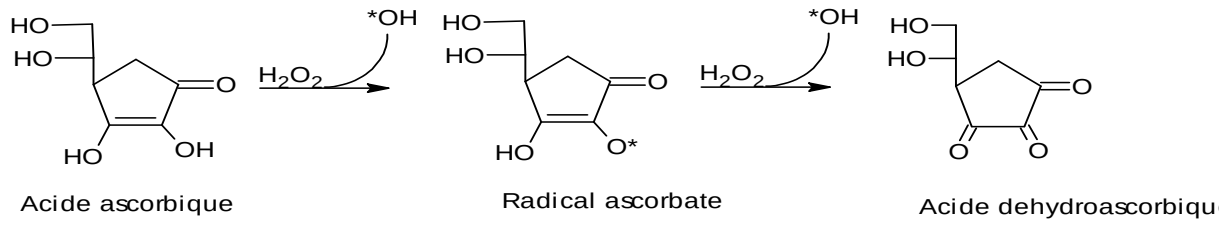


Figure III.29 : Interaction entre l'acide ascorbique et le peroxyde d'hydrogène**[224]**

La réaction d'estérification est effectuée en deux étapes, la première est conçue pour l'activation de l'inuline par les réactions radicalaires et la seconde consiste à l'insertion des molécules antioxydantes (xanthane) sur le macroradical préformé.

Sur la Figure III.30, un mécanisme possible d'insertion du xanthane sur l'inuline est proposé. Les radicaux hydroxyles, générés par l'interaction entre les composantes du couple redox, attaquent les atomes H dans les groupements hydroxyles de l'inuline (étape 1). Selon Verraest**[299]**, le groupe hydroxyle sur le carbone C-4 est le plus réactif. Ce résultat peut être expliqué par la plus forte acidité de l'alcool secondaire sur le carbone C-4 par rapport à l'alcool primaire sur le carbone C-6, et par l'encombrement stérique sur le C-3 qui est orienté en position *cis* par rapport au groupe hydroxyle en C-6. Les molécules de xanthane vont par la suite se fixer sur le radical macromoléculaire par le biais d'une liaison covalente (étape 2).

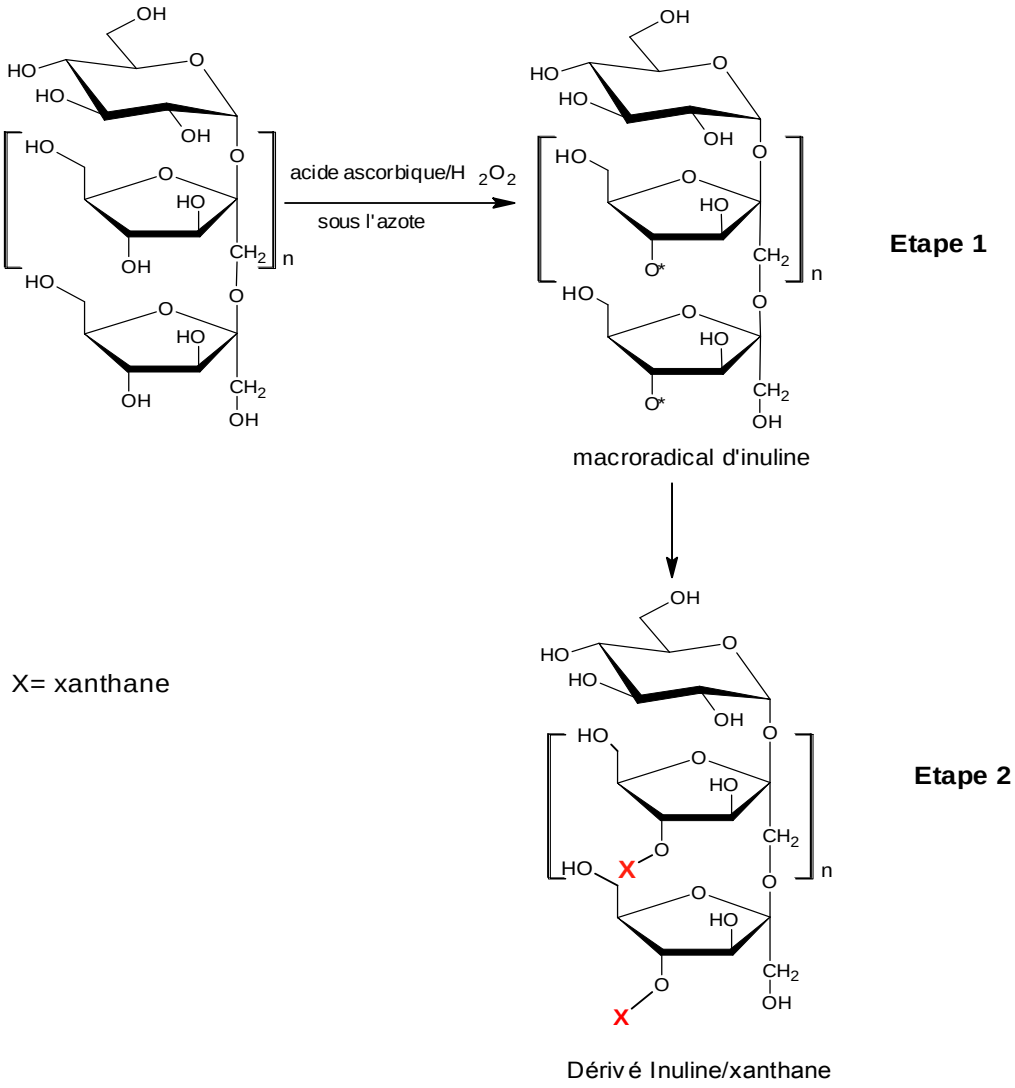


Figure III.30 : Insertion du xanthane sur la molécule d'inuline

Il faut signaler que l'inuline commerciale (Orafti® HPX) utilisée lors de cette partie est de haute molécularité (DP >23) et elle est obtenue à partir de l'institut Orafti.

III.5.2.1. Détermination du degré d'estérification

Le degré d'estérification des différents dérivés obtenus a été déterminé par déconvultion des spectres FTIR des dérivés inuline-xanthane en utilisant la relation (II.9). Les résultats obtenus sont illustrés sur la Figure III.31.

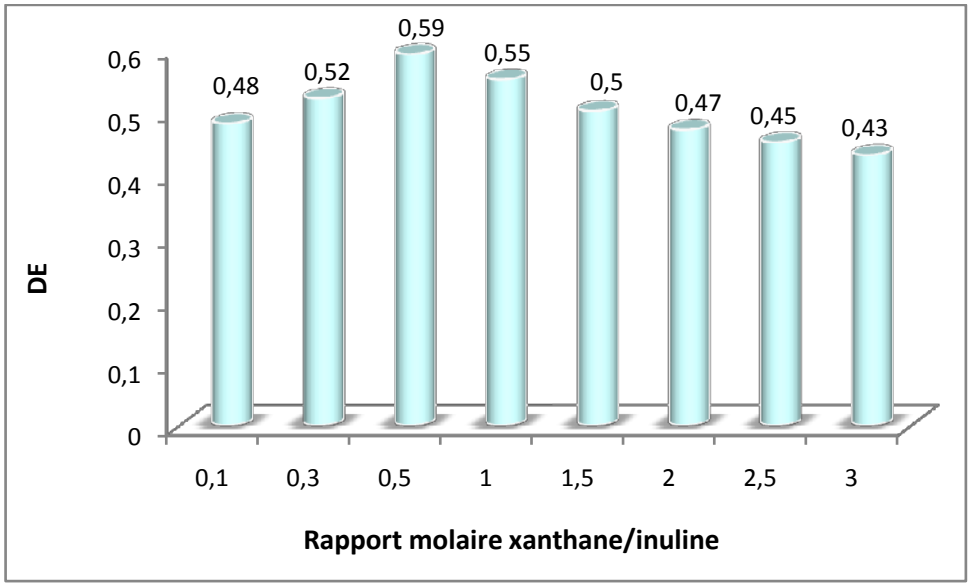


Figure III.31 : Variation du degré d'estérification en fonction du rapport molaire xanthane/inuline

D'après les résultats obtenus, le degré d'estérification est proportionnel à la variation de la quantité d'inuline dans le milieu réactionnel pour des rapports molaires supérieurs à 0.5. Cette relation s'inverse quand le rapport molaire est inférieur à 0.5, cela revient peut-être au chargement de la molécule de xanthane qui limite la réaction d'estérification. Le meilleur DE (0.59) est obtenu avec un rapport molaire xanthane/inuline de 0.5 (nombre de moles des unités de fructose est le double du nombre de moles de l'unité monomérique du xanthane).

Pour la suite du travail, on prendra en considération le rapport molaire qui a donné le meilleur DE.

III.5.2.2. Influence de temps de réaction sur le degré d'estérification

La réaction d'estérification est influencée par plusieurs paramètres parmi lesquelles on cite, le temps de réaction, le rapport molaire et la température de réaction. Dans cette partie, nous

nous sommes intéressés à l'étude de la variation du degré d'estérification des dérivés inuline-xanthane en fonction de temps de réaction (1, 2, 3, 6, 24 et 72h) avec un rapport molaire xanthane/Inuline fixe et égal à 0.5 (Figure III.32).

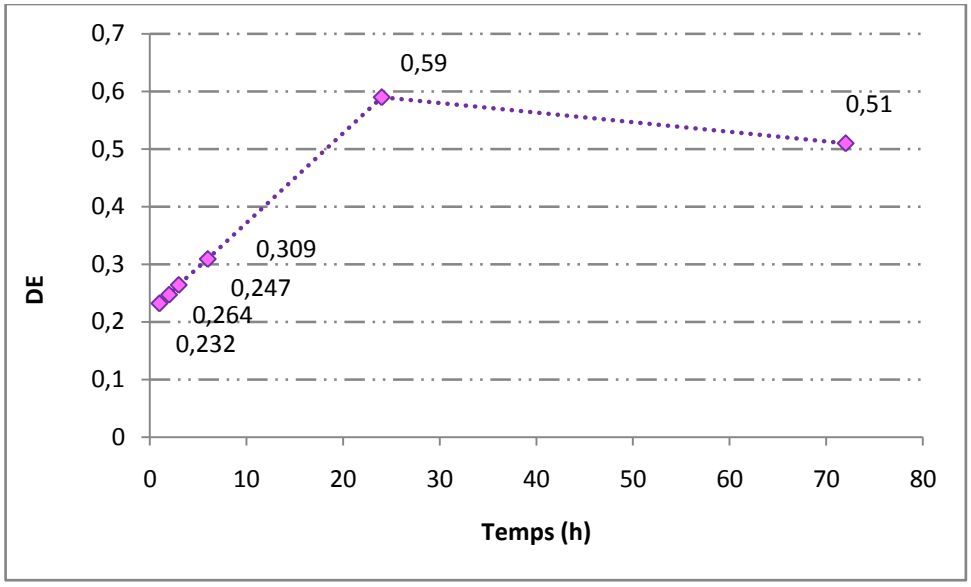


Figure III.32 : Variation du degré d'estérification en fonction du temps de réaction

L'examen de la Figure III.32 montre que le degré d'estérification varie progressivement durant les premières heures de modification (1 à 6h), cela revient peut être au changement de la structure de xanthane d'un côté et à la viscosité élevée du milieu réactionnel de l'autre côté, ce qui limite l'homogénéisation du milieu et par la suite le contact entre les différents réactifs. Après 24h de réaction, le degré d'estérification présente une valeur maximale. Néanmoins cette valeur a diminué après 72h de réaction de 0.59 jusqu'à 0.51.

En étudiant les deux paramètres (rapport molaire et temps de réaction) influençant l'estérification de l'inuline avec le xanthane, on déduit qu'un rapport molaire xanthane/inuline égal à 0.5 et un temps de réaction de 24h sont les conditions opératoires qui nous donnent une meilleure estérification avec un DE égal à 0.59.

III.5.3.Caractérisation des dérivés inuline-xanthane obtenus

Les inulines extraites à partir des différentes sources lors de la première partie ont été estérifiées avec le xanthane sous les conditions opératoires déterminées dans la section III.5.2. Les dérivés obtenus sont : IN_A-X, IN_{HPX}-X, IN_T-X, IN_C-X désignant inuline d'artichaut-xanthane, inuline commerciale de haut degré de polymérisation-xanthane, inuline de topinambour-xanthane et inuline de chicorée-xanthane respectivement.

III.5.3.1. Caractérisation par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier

Les résultats de caractérisation par spectroscopie infra-rouge à transformée de Fourier des dérivés inuline-xanthane obtenus sont représentés sur les Figures III.33 et III.34.

Les bandes carbonyles de xanthane correspondant aux formes acide et ester peuvent être observées à 1606 et 1719cm^{-1}, respectivement (Figure III. 33). Après estérification de l'inuline avec le xanthane, les intensités relatives dans la bande carbonyle ont été changées. Le rapport surfacique acide/ester, après déconvultion des spectres, diminué de 6.79 (dans le cas de xanthane) à 1.69 (dans le cas de dérivé IN$_{HPX}$-X). Cette diminution indique la conversion de la liaison acide en ester par estérification. De plus, le spectre FTIR de dérivé IN$_{HPX}$-X montre aussi la disparition du pic à 1402cm^{-1}ce qui indique l'absence de la vibration symétrique de la liaison C=O de l'ion carboxylate (–COO–).

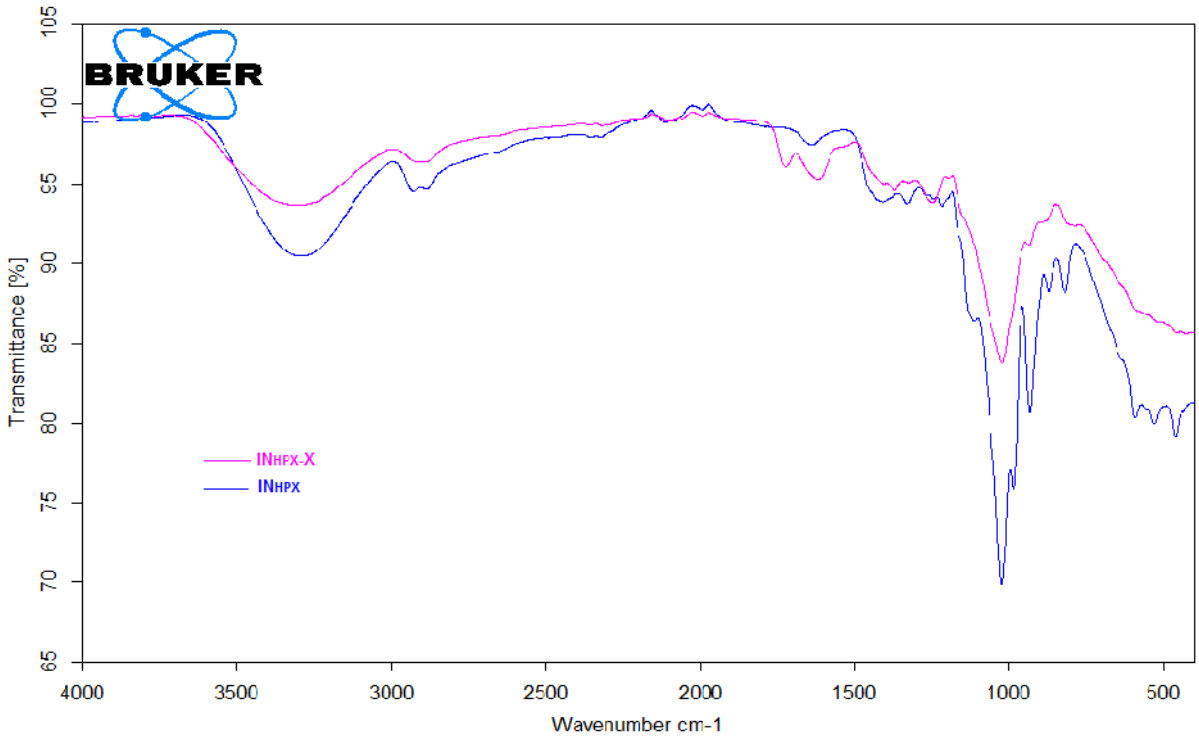


Figure III. 33 : Spectres FTIR de l'inuline commerciale (IN$_{HPX}$) et le dérivé IN$_{HPX}$-X

La déconvultion des spectres FTIR des dérivés d'inuline présentés sur la Figure III.34 donne des valeurs de rapport surfacique acide/ester de 2.73, 3.03 et 3.84 pour le dérivé IN$_A$-X, IN$_C$-X et IN$_T$-X, respectivement. En comparant ces rapports surfaciques avec celui duxanthane, on peut dire que les inulines ont été estérifiées avec le xanthane. Les DE obtenus sont rassemblés dans le Tableau III.6.

Tableau III.6 : DE des dérivés obtenus

Composé	Rapport surfacique acide/ester	DE
Xanthane	6.79	0.14
IN_{HPX}-X	1.69	0.59
IN_{A}-X	2.73	0.36
IN_{C}-X	3.03	0.33
IN_{T}-X	3.84	0.26

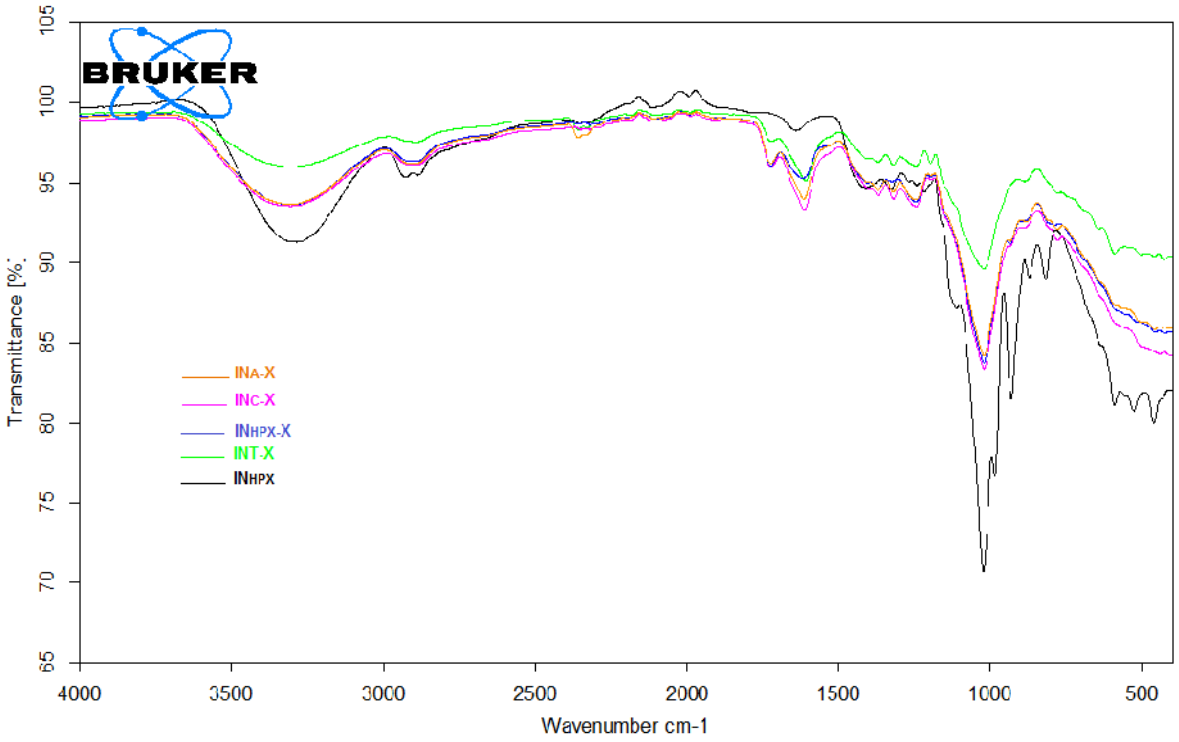


Figure III.34 : Spectres FTIR de l'inuline commerciale (IN_{HPX}) et les dérivés Inuline-xanthane

III.5.3.2. Estimation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante du xanthane, l'inuline commerciale ainsi que les dérivés obtenus vis-à-vis du radical DPPH a été évaluée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible en suivant la réduction de ce radical qui s'accompagne par son passage de la couleur violette ($DPPH^{*}$) à la couleur jaune (DPPH-H) mesurable à 517nm (Figure III.35). Cette capacité deréduction est déterminée par une diminution de l'absorbance induite par des substances antiradicalaires.

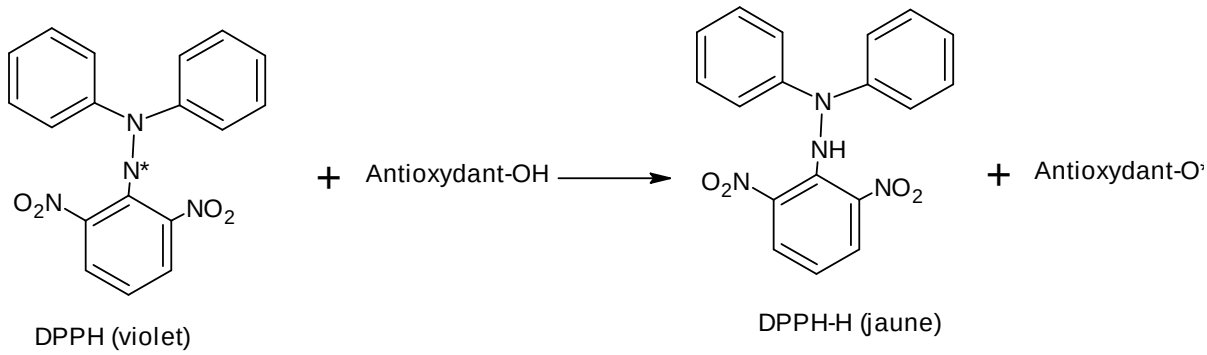


Figure III.35 : Réaction d'un antioxydant avec le radical DPPH**[300]**

La Figure III.36 présente les résultats de mesure du pourcentage d'inhibition du radical DPPH des dérivés obtenus à une concentration de 0.5mg/ml. D'après les résultats obtenus, l'inuline donne une très faible activité antioxydante avec un pourcentage d'inhibition de 5.24%; tandis que le xanthane donne la meilleure activité de piégeage des radicaux libres. Selon Xiong et *al.***[301]**, l'activité antioxydante de la gomme xanthane est liée aux teneurs en groupes hydroxyle, acide pyruvique et en sucre réducteur.

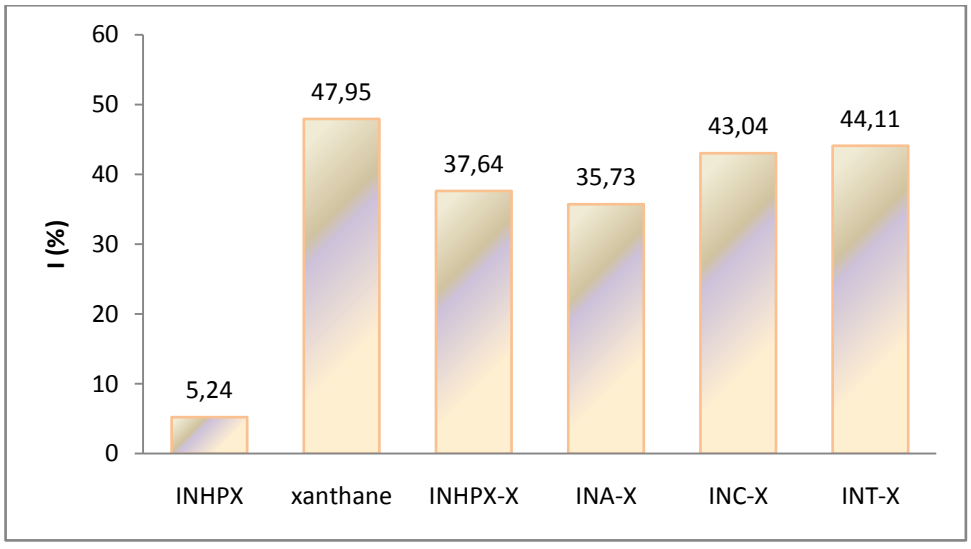


Figure III.36 : Pourcentage d'inhibition des dérivés obtenus

Il semble que l'estérification duxanthane n'a pas une grande influence sur le pouvoir d'inhibition des radicaux DPPH. On observe que le pourcentage d'inhibition des dérivés a diminué avec une différence allant de 3.84 à 12.22% par rapport à celui de xanthane. D'autre part, ce taux d'inhibition est inversement proportionnel au degré d'estérification dans le cas des dérivés IN_A-X, IN_C-X et IN_T-X, cela revient peut-être à la diminution du nombre des

groupements d'acide pyruvique dans la molécule de xanthane suite à son estérification avec les groupements hydroxyles de l'inuline.

III.5.4.Etude rhéologique

La recherche sur des systèmes modèles a montré que l'inuline en combinaison avec les hydrocolloïdes peut influencer le comportement rhéologique de ces ingrédients et additifs. L'inuline a une influence significative (avec son efficacité de formation des liaisons hydrogène et sa solubilité conséquente) sur divers ingrédients tels que la gomme de guar, la gomme de xanthane, les carraghénanes, les alginates, les pectines, la maltodextrine et l'amidon**[87]**.

Les résultats de la variation de la viscosité apparente (η_{app}) du xanthane et des dérivés obtenus en fonction de la vitesse de rotation, données par les Figures III.37 et III.38, montrent que la viscosité apparente diminue en fonction de la vitesse de rotation. L'allure des courbes présente des comportements rhéofluidifiants pour tous les échantillons étudiés. Les échantillons des dérivés obtenus présentent une viscosité apparente nettement plus faible que celle présentée par le xanthane aux mêmes vitesses de rotation. Par ailleurs, la viscosité apparente des dérivés diminue avec l'augmentation du DE.

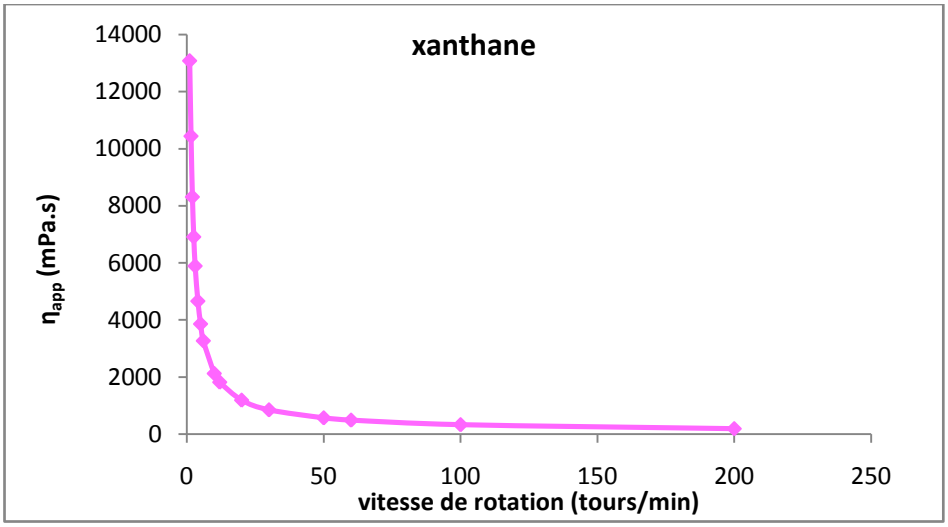


Figure III.37 : Viscosité apparente du xanthane

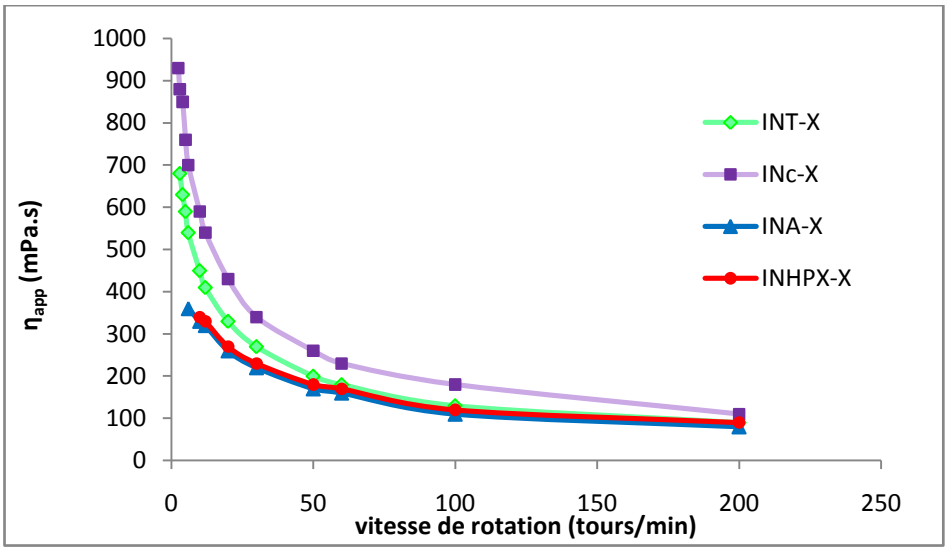


Figure III.38 : Viscosité apparente des dérivés obtenus IN_T-X (DE 0.26), IN_C-X (DE 0.33), IN_A-X (DE 0.36), IN_{HPX}-X (0.59)

III.5.5.Evaluation des propriétés de gonflement et d'érosion des hydrogels formulés

L'inuline est un biopolymère doué de propriétés physico-chimiques et nutritionnelles importantes notamment sa résistance à la dégradation vis-à-vis des sécrétions du suc gastrique et son effet prébiotique.

Le radical hydroxyle est considéré comme le radical le plus réactif dans les tissus biologiques. Il réagit facilement avec des molécules telles que les acides aminés, les protéines et l'ADN, entraînant ainsi des lésions cellulaires. Il s'avère également qu'il est un initiateur actif pour la peroxydation des lipides**[301]**.

Récemment un hydrogel antioxydant sensible à la variation de température a été synthétisé par Spizzirri et *al.***[226]** en appliquant une stratégie très intéressante du point de vue industriel qui consiste au greffage de la molécule antioxydante sur l'inuline et la formulation de l'hydrogel au même temps. Les monomères synthétiques utilisés pour la formulation de l'hydrogel sont le N,N-éthylenebis(acrylamide) (EBA) et N-isopropylacrylamide (NIPAAm).

Dans notre étude, on a adopté la même stratégie qui est la modification de l'inuline et la formulation d'un hydrogel antioxydant et bioadhésif en une seule étape et en utilisant le xanthane comme polymère naturel doué des propriétés antioxydantes et bioadhesives.

Les résultats du calcul des taux de gonflement de gels à base de xanthane seul et IN_{HPX}-X à 37°C dans l'eau distillée et une solution saline tampon phosphate pH=7.4 (PBS 7.4) sont représentées sur les Figure III. 39-a et b, respectivement.

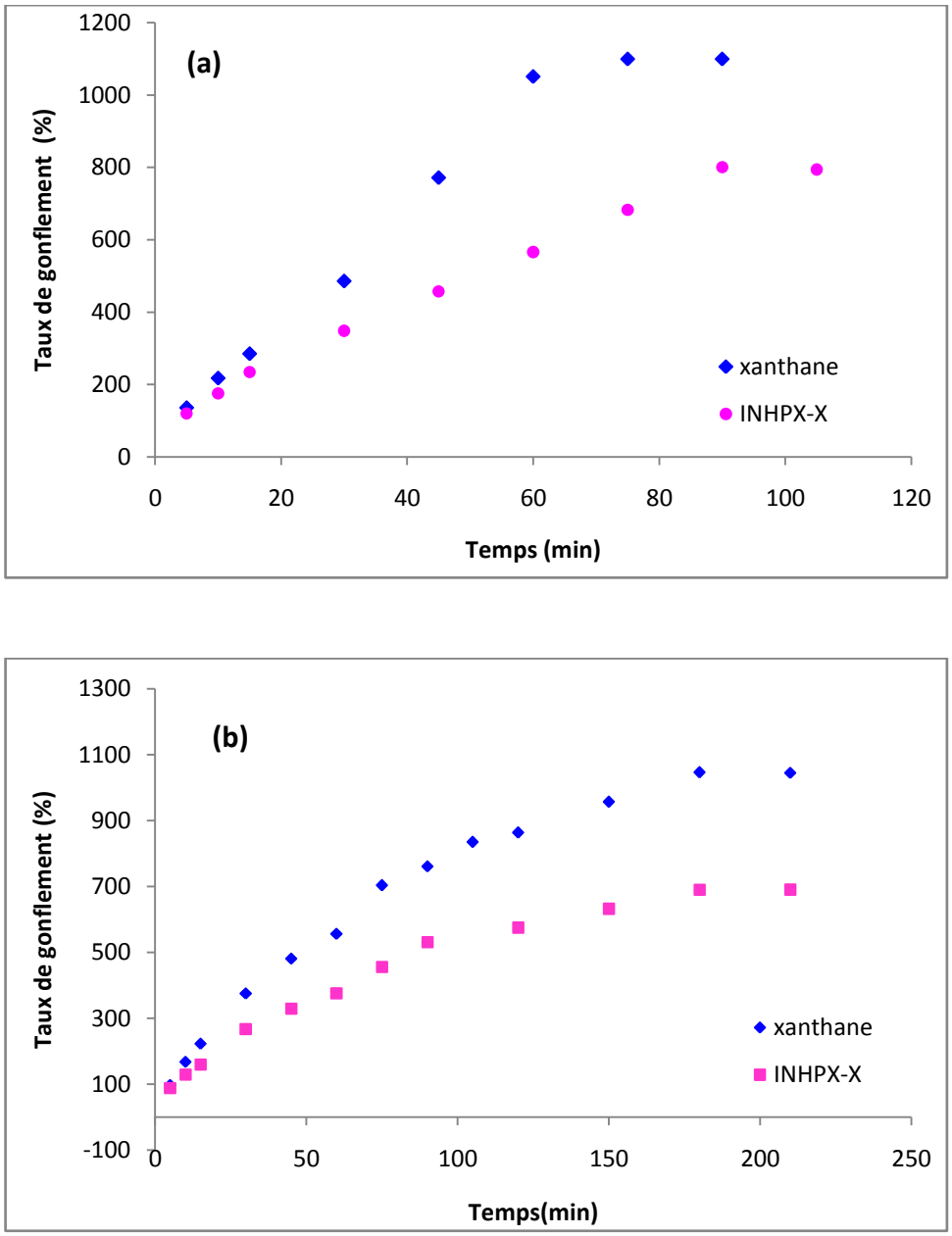


Figure III. 39 : Evolution des taux de gonflement des gels à 37°C :
(a) dans l'eau distillée, (**b**) dans la solution PSB 7.5

La cinétique de gonflement présente le même profil pour tous les gels avec une diminution des taux de gonflement des gels IN_{HPX}-X par rapport aux gels à base de xanthane seul dans les différents milieux. Par ailleurs, on remarque que le taux de gonflement augmente avec le temps pour les deux gels jusqu'à l'équilibre, où les polymères sont complètement hydratés. Initialement, les polymères gonflent presque de la même façon aux premiers instants de l'expérience, puis une différence nette du processus apparait au cours du temps entre les deux gels dans les deux milieux.

Les hydrogels à base de xanthane contiennent des groupes acides sous forme de résidus O-acétyle et pyruvyle, qui peuvent être complètement déprotonés à pH> 6. En outre, en milieu basique, les groupes hydroxyle n'ayant pas réagi sont également déprotonés et les liaisons ester subissent une hydrolyse alcaline. Ainsi, la répulsion électrostatique et la perturbation de la réticulation favorisent l'augmentation de la quantité absorbée en solvant.

Comme nous pouvons l'observer dans la Figure III.40, dans le cas des hydrogels réticulés IN_{HPX}-X, le degré maximal de gonflement dépasse la valeur de 690% dans les deux solvants. Ce taux s'est abaissé par rapport à celui des hydrogels à base de xanthane, cela revient à l'augmentation de la densité de réticulation suite à l'estérification de xanthane avec l'inuline.

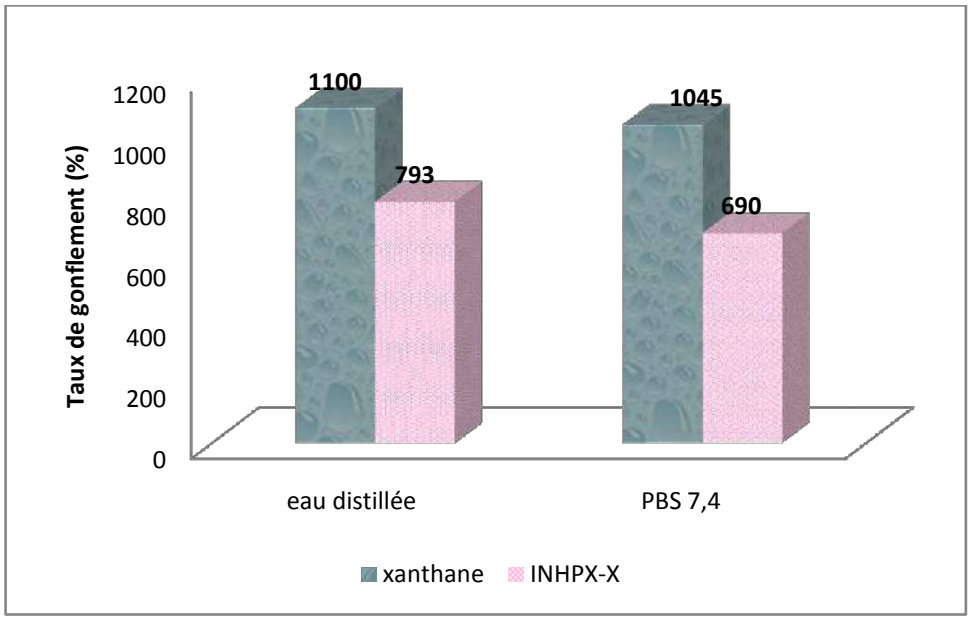


Figure III.40 : Taux maximal de gonflement des hydrogels à base de xanthane et IN_{HPX}-X dans l'eau distillée et la solution PBS 7.4

L'érosion se fait de l'extérieur vers l'intérieur de la masse du gel, avec une perte en polymère progressive. Les gels à base de xanthane seul et IN_{HPX}-X possèdent presque les mêmes taux d'érosion dans la solution PBS pH=7.4 (Figure III.41) ; tandis que dans le cas de l'eau distillée le gel de xanthane présente un taux d'érosion supérieur à celui du gel réticulé inuline-xanthane.

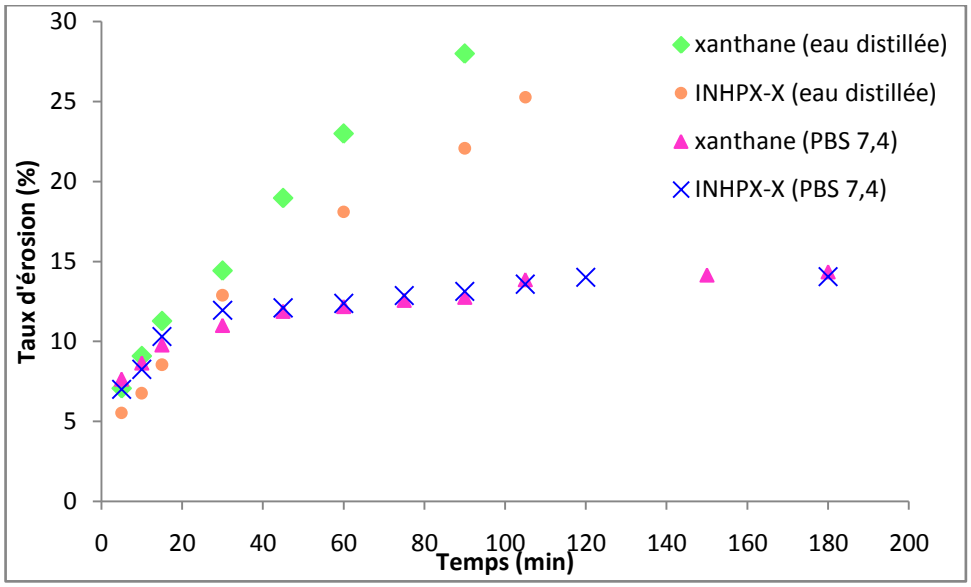


Figure III.41 : Evolution des taux d'érosion des gels à 37°C

III.5.6. Conclusion

Lors de cette partie, une modification chimique des inulines extraites au cours de la 1ère partie a été réalisée sous différentes conditions opératoires. Les dérivés obtenus ont subi une caractérisation par spectroscopie infrarouge où l'intensité trouvée du pic ester est supérieure à celle du xanthane indiquant l'apparition des liaisons ester entre l'inuline et le xanthane. De plus, l'étude rhéologique de ces dérivés présente un comportement rhéo-fluidifiant avec une diminution remarquable dans la viscosité apparente des dérivés par rapport à celle du xanthane seul.

L'étude de gonflement des gels à base de dérivés obtenus montre une diminution du taux de gonflement maximal par rapport aux gels à base de xanthane seul dans les deux milieux étudiés, tandis qu'ils présentent presque le même taux d'érosion dans la solution tampon phosphatée pH=7.4.

Références Bibliographiques

[277]Restuccia, C., Lombardo, S., Pandino, G., Licciardello, F., Muratore, G., Mauromicale, G., "An innovative combined water ozonisation/O3-atmosphere storage for preserving the overall quality of two globe artichoke cultivars", Innovative Food Science and Emerging Technologies, 21 (2014) 82–89.

[278]Masoud, M.I., Amin, W.A., Elgindy, A.A., "Chemical and technological studies on Chicory (CichoriumIntybus L) and its applications in some functional food", Advanced Journal of Agricultural Research, 14 (2009) 739-754.

[279]Hamza, A., Zouari, N., Zouari, S., Jdir, H., Zaidi, S., Gtari, M., Neffati, M.,"Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of TerfeziaboudieriChatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone", Arabian Journal of Chemistry, 9 (2016) 383–389.

[280]Goupy, J., Creighton, L., "Synthèse et Conseils In Introduction Aux Plans d'Expériences", (2006), Dunod Edition, pp 272-280.

[281] Lefnaoui, S. "Formulation de système bioadhésifs à base de polymères, Etude des propriétés physicochimique et biopharmaceutiques", thèse de doctorat, département de chimie industrielle, université de Blida, 2014.

[282]Wei, L., Wang, J., Zheng, X., Teng, D., Yang, Y., Cai, C., Feng, T. & Zhang, F., "Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers", Journal of Food Engineering, 79 (2007) 1087-1093.

[283]Ocilka, M., Kováč, D., "Simulation model on induction heating in comsolmultiphysics", Acta Electronica et etInformatica, 15 (2015) 29–33, DOI: 10.15546/aeei-2015-0005.

[284]Rivera, L., Vilarem, G., "Hydrodistilltion of caraway by direct induction heating assisted by magnetique field process", Flavour and Fragrance Journal, 22 (2006) 178-183.

[285]Zouambia, Y., Youcef-Ettoumi, K., Krea, M., Moulai-Mostefa, N., "A new approach for pectin extraction: electromagnetic induction heating". Arabian Journal of Chemistry, (2014), dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.011.

[286]Gupta, A.K., Kaur, N., Kaur, N., "Preparation of inulin from chicory roots", Journal of Scientific and Industrial Research, 62(2003) 916-920.

[287]Bemiller, J.N., "Isolation and hydrolysis of alkali-stable inulin", Carbohydrate Research, 21 (1972) 154-155.

[288]**]** Loo, V., Hermans, J., "Inulin products with improved nutritional properties", European Patent Application, (2000) EP1125507A1.

[289]**[290]**Hu, Y., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Guo, Z., "Synthesis, characterization, and antioxydant properties of novel inulin derivatives with amino-pyridine group", International Journal of Biological Macromolecules, 70 (2014) 349-361.

[290]Yang, L., Zhang, L.M., "Review Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources", Carbohydrates, 76 (2009) 349-361.

[291]Jones, A.G., "Crystallization process systems", Butterworth-Heinemann, an imprint of Elsevier Science, 1st edition (2002), pp 61-66.

[292]**[294]**Marchessault, R.H., Bleha, T., Deslandes, Y., Revol, J.F., "Conformation and crystalline structure of (2→1)-β-D-fructofuranan (inulin)", Revue Canadienne de Chimie, 58 (1980) 2415-2422.

[293]Pekić, B., Slavica, B., Lepojević, Ž., "Effect of pH on the acid hydrolysis of Jerusalem artichoke inulin", Food Chemistry, 17 (1985) 169-173.

[294]Bonting, L.S., "Differential determination of glucose and fructose in microgram quantities", Archives of Biochemistry and Biophysics, 52 (1954) 272-279.

[295]Delanaye, P., Souvignet, M., Dubourg, L., Thibaudin, L., Maillard, N., Krzesinski, J-M., Cavalier, E., Mariat, C., "Le dosage de l'inuline: mise au point", Annales de Biologie Clinique, 63 (2011) 273-284.

[296]Vendrell-Pascuas, S., Castellote-Bargalló, A.I., López-Sabater, M.C., "Determination of inulin in meat products by high-performance liquid chromatography with refractive index detection", Journal of Chromatography A, 881 (2000) 591-597.

[297]Lagunez, R., "Etude de l'extraction de metabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe", Thèse Doctorat, istitut national polytechnique de Toulouse, (2006).

[298]**]**Xiong, X., Li, M., Xie, J., Xue, B., Sun, T., Preparation and antioxydant activity of xanthan oligosaccharides derivatives with similar substituting degrees, Food Chemistry, 2014.http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.001.

[299]Verraest, D.L., "Modification of Inulin for non-food Applications", Dissertation, (1997) 101-102.

[300]Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J.C., Câmara, J.S., Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines, Food Chemistry, 105 (2007) 204–214.

[301]Xiong, X., Li, M., Xie, J., Jin, Q., Xue, B., Sun, T., Antioxydant activity of xanthan oligosaccharides prepared by different degradation methods, Carbohydrate Polymers, 92 (2013) 1166-1171.

CONCLUSION GENERALE

Le travail présenté dans ce manuscrit avait pour objectif la mise au point d'un hydrogel antioxydant et sensible à la variation du pH à base d'inuline. Pour cela, une modification chimique de l'inuline est nécessaire pour la synthèse d'un nouveau dérivé doté de ces propriétés antioxydantes.

Nous avons procédé, lors du premier volet de ce travail, à l'extraction de ce polysaccharide (l'inuline) à partir des akènes d'artichaut en adoptant une méthodologie basée sur les plans d'expériences, dont le but est d'évaluer l'effet des différents paramètres opératoires sur le rendement d'extraction ainsi que la viscosité de l'inuline extraite.

Les résultats obtenus montrent qu'un rendement de 45.98% en inuline et une viscosité de 3.25ml/g peuvent être obtenu dans les conditions suivantes : une température de 89.49°C, un temps d'extraction de 120min, un rapport pondéral de 5.01% en utilisant le procédé de chauffage par EMIH. Ces conditions ont été considérées comme optimales pour la suite du travail.

D'autres sources végétales et fongiques ont été utilisées pour l'extraction de l'inuline sous les conditions optimales notamment les racines de chicorée, les tubercules de topinambour et les truffes de désert. D'après les résultats trouvés, il s'avère que le rendement d'extraction de l'inuline dépend non seulement des conditions d'extraction, mais aussi de l'espèce végétale ainsi que la variété utilisée. Les extraits obtenus ont été soumis à des analyses physico-chimiques appropriées (FTIR, CCM, DRX, MEB…). L'analyse structurale par diffraction des rayons X a montré une structure semi-cristalline des inulines extraites contrairement à l'inuline commerciale (native) qui présente une structure amorphe. De plus, les résultats de calcul du degré de polymérisation (DP_w) prouvent que les inulines extraites sont de haute molécularité avec un $DP_w \geq 23$.

L'extraction par chauffage à induction électromagnétique représente une nouvelle méthode pour l'extraction de l'inuline. L'intérêt est la possibilité de préserver la qualité des produits à extraire en faisant appel à une technologie qui permet une homogénéisation rapide de la température du milieu d'extraction. Les essais réalisés montrent que le rendement en inuline extraite par induction électromagnétique (45.98%) obtenu en 120min peut être obtenu en un temps réduit (75min) en utilisant la solution de sulfate de magnésium (2%) de conductivité élevée comme solvant d'extraction à la place de l'eau distillée. Ainsi, il s'avère que l'extraction de l'inuline par induction électromagnétique est une méthodologie prometteuse sur le plan technologique.

Dans le deuxième volet de ce travail, l'accent a été mis sur la modification chimique de l'inuline. Cette fonctionnalisation est réalisée par l'estérification de l'inuline avec le xanthane en milieu homogène. La technique utilisée dans notre étude vise à modifier et à formuler les hydrogels en même temps. L'influence des différents rapports molaires de xanthane et d'inuline (n_X/n_{IN}) ainsi que le temps de réaction sur le DE a été étudiée. Un rapport molaire de 0.5 et un temps de réaction de 24h ont donné un degré d'estérification maximal de 0.59. La caractérisation par FTIR des dérivés obtenus montre un changement au niveau des intensités relatives dans la bande carbonyle, ce changement dépend de la source d'inuline utilisée. D'après les résultats de calcul de taux d'inhibition, il s'avère que la fonctionnalisation de xanthane n'a pas une grande influence sur son pouvoir de piégeage des radicaux libres déterminé par les essais auDPPH.

L'étude de la cinétique de gonflement des hydrogels montre que la capacité de gonflement des hydrogels antioxydants dans l'eau distillée et une solution de pH 7.4 est inférieureà celle des hydrogels à base de xanthane seulement.Ainsi, la modification chimique a limité le gonflement des matrices polymériques à base de xanthane.

Plusieurs perspectives peuvent être proposées pourla poursuite de ce travail de recherche :

- ✓ Pour l'extraction de l'inuline, l'introduction de l'induction électromagnétique s'est avérée une technologie prometteuse. Cependant, nous sommes malgré tout dans la phase exploratrice de cette technologie. Beaucoup de travaux restent à réaliser tant sur le plan du fonctionnement, que sur le plan du « design » évolutif des réacteurs à induction électromagnétique directe.
- ✓ En ce qui concerne la modification chimique de l'inuline, il serait souhaitable d'étudier la modification en milieu organique homogène, pour limiter l'effet de l'oxygène atmosphérique sur le rendement de la modification. Ce point mériterait une étude plus détaillée qui n'a pas pu être menée dans le cadre de ce travail de thèse.
- ✓ Il serait préférable de réaliser d'autres caractérisations physicochimiques sur les dérivés obtenus notamment la DRX, MEB, DSC ainsi que l'effet prébiotique.
- ✓ Enfin un travail plus approfondi sur la formulation et la caractérisation des hydrogels est nécessaire pour pouvoir avancer sur l'intérêt d'utiliser l'inuline modifiée.

Références bibliographiques

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]Ritsema, T., Smeekens, S.C.M., "Engineering fructan metabolism in plants", Journal of plant Physiology, 160 (2003) 811-820.

[2]Vereyken, I.J., Chupin, V., Demel, R.A., Smeekens, S.C.M., De Kruijff, B., "Fructans insert between the headgroups of phospholipids", Biochimica etBiophysicaActa, 1510 (2001)307-320.

[3]Apolinário, A.C., de Lima Damasceno, B.P.G., de Macêdo Beltrão, N.E., Pessoa, A., Converti, A., da Silva, J.A., "Inulin-type fructans: A review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology", Carbohydrate Polymers, 101(2014) 368–378.

[4]Frank, A., "Technological functionality of inulin and oligofructose", British Journal of Nutrition, 87(2002) S287-S291.

[5]Hendry, G.A.F., "Evolutionary origins and natural functions of fructans: a climatological, ciogeography and mechanistic appraisal", New Phytologist, 123(1993) 3-14.

[6]Martinez-Fleites, C., Ortiz-lombardia, M., Pons, T., Tarbouriech, N., Taylor, E.J., Arrieta, J.G., Hernandez, L., Davies, G.J., "Crystal structure of levansucrase from the Gram-negative bacterium *Gluconacetobacter diazotropicus*", Biochemistry Journal, 390(2005) 19-27.

[7]Valluru, R., Van den Ende, W., "Plant fructans in stress environments: emerging concepts and future prospects", Journal of Experimental Botany, 59(2008) 2905-2916.

[8]Watts, K., Pollitt, C., "Equine Laminitis - Managing pasture to reduce the risk", Rural Industries Research and Development Corporation RIRDC, Publication No.10/063(2010) 3-70.

[9]Vijn, I., Smeekens, S., "Fructan: More than a reserve carbohydrate?", Plant Physiology, 120(1999) 351-360.

[10]Raccuia, S.A., Melilli, M.G., "Seasonal dynamics of biomass, inulin, and water-soluble sugars in root of *Cynara cardunculus L.*", Field Crops Research, 116(2010) 147-153.

[11]Pollock, C.J., "Fructans and the metabolism 01: sucrose in vascular plants", New Phytologist, 104(1986) 1-24.

[12]Levitt, J., "Responses of plants to environmental stresses, Vol. I, Chilling, freezing, and high temperature stresses", 2nd ed. Orlando, FL: Academic Press, (1980).

[13]Timmermans J.W., deWit, D., Tournois, H., Leeflang, B.R., Vliegenthart, J.F.G., "MD calculations on nystose combined with NMR spectroscopy on inulin related oligosaccharides", Journal of Carbohydrate Chimestry, 12 (1993) 969-979.

[14]Damian, F., Guy Van Den, M., Celest, S., Renaat, K., "In vitro biodegradation study of acetyl and methyl inulins by Bifidobacteria and inulinase", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 47(1999) 275-282.

[15]López-Molina, D., Navarro-Martínez, M.D., Melgarejo, F.R., Hiner, A.N.P., Chazarra, S., Rodríguez-López, J.N., "Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara Scolymus L*.)", Phytochemistry, 66(2005) 1476-1484.

[16]Femia, A.P., Luceri, C., Dolara, P., Giannini, A., Biggeri, A., Salvadori, M., Clune, Y., Collins, K.J., Paglierani, M., Caderni, G., "Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructose in combination with the probiotics *Lactobacillus rhamnosus* and *Bifidobacterium lactis* on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats", Carcinogenesis, 11(2002) 1953-1960.

[17]Ronkart, S.N., Blecker, C.S, Fourmanoir, H., Fougnies, C, Deroanne, C., Van Herck, J.C, Paquot, M., "Isolation and identification of inulooligosaccharides resulting from inulin hydrolysis", Analytica Chimica Acta, 604(2007) 81-87.

[18] Roberfroid, M.B., "Inulin-type fructans: functional food ingredients", Journal of Nutrition, 137 (2007)2493S-2502S.

[19]Greg Kelly, N.D., "Inulin-type prebiotics- A review: Part 1", Alternative Medicine Review, 13(2008) 315-329.

[20]Roberfroid, M.B., "Chicory fructooligosaccharides and the gastrointestinal tract", Nutrition, 16(2000)677-679.

[21]Niness, K.R., "Inulin and oligofructose: what are they?", Journal of Nutrition, 129 (1999) 1402S-1406S.

[22] Matías, J., González, J., Royano, L., Barrena, R.A., "Analysis of sugars by liquid chromatography-mass spectrometry in jerusalem artichoke tubers for bioethanol production optimization", Biomass and Bioenergy, 35(2011) 2006-2012.

[23]Judprasong, K., Tanjor, S., Puwastien, P., Sungpuag, P., "Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans", Journal of Food Composition and Analysis, 24(2011) 642-649.

[24]Ganaie, M.A., Pathak, L.K., Gupta, U.S.,"Production of Fructoligsaccharides by *Aureobasidium Pullulans* Using Immobilization Technique", Journal of Food Technology, 9(2011) 91-94.

[25]Levine, H., Slade, L., "Principles of « cryostabilization » technology from structure/property relationships of carbohydrate/water systems a review", Cryoletters, 9(1988) 21-63.

[26]Kawai, K., Fukami, K., Thanatuksorn, P., Viriyarattanasak, C., Kijiwara, K., "Effects of moisture content, molecular weight, and crystallinity on the glass transition temperature of inulin", Carbohydrate Polymers, 3 (2011) 934-939.

[27]André, I., Putaux, J.L., Chanzy, H., Taravel, F.R., Timmermans, J.W., de Wit, D. "Single crystals of inulin", International journal of Biological Macromolecules, 18 (1996) 195-204.

[28]André, I., Mazeau, K., Tvaroska, I., Putaux, J.L., Winter, W.T., Taravel, F.R., Chanzy, H., "Molecular and crystal structures of inulin from electron diffraction data", Macromolecules, 29 (1996) 4626-4635.

[29]Ronkart, S., Blecker, C., Fougnies, C., Van Herck, J.C., Wouters, J., Paquot, M., "Determination of physical changes of inulin related to sorption isotherms: An X-ray diffraction, modulated differential scanning calorimetry and environmental scanning electron microscopy study", Carbohydrate Polymers, 63 (2006) 210-217.

[30]Ronkart, S.N., Paquot, M., Fougnies, C., Deroanne, C., Blecker, C.S., "Effect of water uptake on amorphous inulin properties", Food Hydrocolloid, 23(2009) 922-927.

[31]Cooper, P.D., Barclay, T.G., Ginic-Markovic, M., Gerson, A.R, Petrovsky, N., "Inulin isoforms differ by repeated addition of one crystal unit cell", Carbohydrate polymers, 103(2014) 392-397.

[32]Cooper, P.D., Rajapaksha, K.H., Barclay, T.G., Ginic-Markovic, M., Gerson, A.R., Petrovsky, N., "Inulin crystal initiation via a glucose-fructose cross-link of adjacent polymer chains: Atomic force microscopy and static molecular modelling", Carbohydrate Polymers, 117(2015) 964-972.

[33]Leroy, G., Grongnet, G.F., Mabeau, S., Corre, D.L., Julian, S.B, "Change in inulin and soluble sugar concentration in artichoke (Cynara scolymus L.) During Storage",Journal of the Science of Food and Agriculture, 90(2010) 1203–1209.

[34]Braz de Oliveira, A.J., Correia Goncalves, R.A., Cantuaria Chierrito, T.P., dos Santos, M.M., de Souza, L.M., James Gorin, P.A., Lanzi Sassaki, G., Lacomini, M., "Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni", Food Chemistry, 129(2011) 305-3011.

[35]Milani, E., Koocheki, A., Golimovahhed, Q.A., "Extraction of inulin from Burdock root (Actium lappa) using high intensity ultrasound", International Journal of Food Science and Technology, 46 (2011) 1699-1704.

[36]Van Loo, J., Coussement, P., de Leenheer, L., Hoebregs, H., Smits, G.,"On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet", Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 35(1995) 535-552.

[37]Franck, A., De Leenheer, L., "Inulin in Biopolymers Online", Wiley-VCH Verlag GmbH & Co.KGaA, (2005), pp 439-448.

[38]Meyer, W.J.M., Matthysen, E.W.J.M., Borm, G.E.L., "Crop characteristics and inulin production of Jerusalem artichoke and chicory", Inulin and Inulin-containing Crops, Studies in Plant Science, 3rd ed., (A. Fuchs ed.), Elsevier Science Publishers, (1993), pp 29-38.

[39]Doré, C., Varoquaux, F., "Histoire et amélioration de cinquante plantes cultivées", INRA-Quae, (2006), pp 219-224.

[40]Perin, L., "Chicory in Medicine", Revue de Pathologie Générale et de Physiologie Clinique, 64(1964) 209-210.

[41]Mulabagal, V., Wang, H, Ngouajio, M, Nair, M.G, "Characterization and quantification of health beneficial anthocyanins in leaf chicory (Cichorium intybus) varieties", European Food Research and Technology, 230(2009) 47-53.

[42]Kidane, A, Parissi, Z.M, Houdjik, J.G.M, Athanasiadou, S, Tolkamp, B.J, Kyriazakis, I., "Chicory as promissing bioactive forage for sheep production, Altenative functions of graaland". In: Proceeding of the 15th European Grassland Federation Symposium, Brno, Czech Republic, 7-9 September(2009)394-397.

[43]Baert, J.R.A., Bochstaele, E.J.V., "Cultivation and breeding of root chicory for inulin production", Industriel Crops Products, 1(1993) 229-234.

[44]Nishimura, M., Ohkawara, T, Kanayama, T., Kitagawa, K., Nishimura, H., Nishihira, J., "Effects of the extract from roasted chicory (Cichorium intybus L.)root containing inulin-type fructans on blood glucose, lipid metabolism, and fecal properties", Journal of Traditional and Complementary Medicine, 5(2015) 161-167.

[45]Frank, A., "Inulin In Food polysaccharides and theirs applications", CRC, Taylor & Francis Group LLC, 2nd Edition, (2006), pp 335-349.

[46]Ujor, V., Bharathidasan, A.K., Michel Jr., F.C., Ezeji, T.C., Cornish, K., "Butanol production from inulin-rich chicory and *Taraxacum kok-saghyz*extracts: Determination

of sugar utilization profile of *Clostridium saccharobutylicum* P262", Industrial Crops and Products, 76(2015) 739-748.

[47]http://faostat3.fao.org/download/Q/QC/F(Dernière consultation: Novembre 2016).

[48]Bach, V., Clausen, M.R., Edelenbos, M., "Chapter 12: Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus teberosus* L.) and impact on inulin and phenolic compounds in Processing and Impact on Active Components in Food", Elsevier, Academic Press, (2015), pp 97-102.

[49]Yang, L., He, Q.S., Corscadden, K., Udenigwe, C.C., "The perspects of Jerusalem artichoke in functionnal food ingredients and bioenergy production", Biotechnology Reports, 5(2015) 77-88.

[50]Niu, L., Manxia, C., Xiumei, G., Xiaohua, L., Hongbo, S., Zhaopu, L, Zed, R., "Carbon sequestration and Jerusalem artichoke biomass biomass under nitrogen applications in coastal saline zone in the northern region of jiangsu, China", Science of the Total Environment, 568 (2016) 885-890.

[51]Song, Y., Gon Wi, S., Kim, H.M., Bae, H-J., "Cellulosic bioethanol production from jerusalem artichoke (*Helianthus teberosus* L.) using hydrogen peroxide-acetic acid (HPAC) pretreatment", Bioresource Technology, (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.bioterch.2016.04.065

[52]Long, X.H, Zhao, J., Liu, Z.P., Rengel, Z., Liu, L., Shao, H.B., Tao, Y., "Applying geostatistics to determine the soil quality improvement by jerusalem artichoke in coastal saline zone", Ecological Engineering**,** 70(2014) 319–326.

[53]Shao, T., Li, L., Wu, Y., Chen, M., Long, X., Shao, H., Liu, Z., Rengel, Z., "Balance between salt stress and endogenous hormones influence dry matter accumulation in Jerusalem artichoke", Science of the Total Environment, (2016), http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.06.076

[54]Li, W., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Gu, G., Guo, Z., "Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from *Jerusalem artichoke*", Carbohydrate Polymers, 121(2015)315-319.

[55]Saengthongpinit, W., Sajjaanantakul, T., "Influence of the harvest time and storage temperature on characteristics of inulin from Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.) tubers", Postharvest Biology and Technology, 37(2005) 93-100.

[56] Haber, E.S., Gaessler, W.G., Hixon, R.M., "Levulose from chicory, dahlia and artichokes", Iowa State College of Journal of Science, 16(1941) 291.

[57]Moerman, F.T., Van Leeuwen, M.B., Delcour, J.A. "Enrichment of higher molecular weight fractions in inulin". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52(2004) 3780–3783.

[58]Kosasih, W., Pudjiraharti, S., Ratnaningrum, D., Priatni, S., "Preparation of inulin from Dahlia Tubers, international Symposium on Applied Chemistry", Procedia Chemistry, 16(2015) 190-194.

[59]Zubaidah, E., Akhadiana, W., "Comparative study of inulin extraction from Dahlia, Yam, and Gembili tubers as prebiotic", Food and Nutrition Science, 4(2013) 8-12.

[60]Shimizu-Yumoto, H., Ichimura, K., "Postharvest characteristics of cut dahlia flowers with a focus on ethylene and effectiveness of 6-benzylaminopurine treatments in extending vase life", Postharvest Biology and Technology, 86(2013) 479-486.

[61]Heyer, A.G., Wendenburg, R., "Gene clonning and functional characterization by heterologous expression of the fructosyltransferase of *Asperagillus sydowi* IAM 2544", Applied and Environmental Microbiology, 67(2001) 363-370.

[62]de Gennaro, S., Birch, G.G., Parke, S.A, Stancher, B., "Studies on the physicochemical properties of inulin and inulin oligomers", Food Chemistry, 68(2000) 179-183.

[63]Schaller-Povolny, L.A., Smith, D.E., Labuza, T.P., "Effect of water content and molecular weight on the moisture isotherms and glass transition properties of inulin", International Journal of Food Properties, 3(2000)173-192.

[64]Blecker, C., Fougnies, J.C., Van Herck, J.P, Chevalier, J.P, Paquot, M, "Kinetic study of the acid hydrolysis of various oligofructose samples", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 50(2002) 1602-1607.

[65]Ronkart, S.N., Paquot, M., Deroanne, C., Fougnies, C., Besbes, S., Blecker, C.S., "Development of gelling properties of inulin by microfluidization", Food hydrocolloids, 24(2010) 318-324.

[66]Ronkart, S.N, Deroanne, C., Paquot, M., Fougnies, C., Lambrechts, J.C., Blecker, C.S., "Characterization of the physical state of spray-dried inulin", Food Biophysics, 2(2007) 83-92.

[67]Petkova, N., Ognyanov, M., Todorova, M., Denev, P., "Ultrasound-assisted extraction and characterization of inulin-type fructan from roots of elcampane (*Inula helenium* L.)", Acta Scientifica Naturalis, 1(2015) 225-235.

[68]McLaughlin, H.P., Mtherway, M.O., Lakshminarayanan, B., Stanton, C., Ross, R.P., Brulc, J., Menon, R., O'Toole, P.W., van Sinderen, D., "Carbohydrate catabolic

diversity of bifidobacteria and lactobacilli of human origin", International Journal of Food Microbiology, 203(2015) 109-121.

[69]Rawat, H.K., Ganaie, M.A., Kango, N., "Production of inulinase, fructosyltransferase and sucrase from fungi on low-value inulin rich substrates and their use in generation of fructose and fructo-oligosaccharides", Antonie Van Leeuwenhoek, 107(2015) 799-811.

[70]Sarchami, T., Rehmann, L., "Optimizing enzymatic hydrilysis of inulin from Jerusalem artichoke tubers for fermentative butanol production", Biomass and bioenergy, 69(2014) 175-182.

[71]Livingston, D.P., Hincha, D.K., Heyer, A.G, "Fructan and its relationship to abiotic stress tolerance in plants", Cellular and Molecular Life Sciences, 66(2009) 2007- 2023.

[72]Boeckner, L.S., Schnepf, M.I., Tungland, B.C., "Inulin: A review of nutritional and health implications", Advances in food and nutrition research, 43(2001) 1-63.

[73]Waleckx, E., "Contribution à l'amélioration du procédé d'élaboration de la Tequila par l'utilisation d'enzymes", Thèse de doctorat, Ecole Doctorale : Sciences Écologiques, Vétérinaires, Agronomiques et Bioingéniries, Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse INSA, (2007).

[74]Edelman, J., Jefford, T.G., "The mechanism of fructosan metabolism in higher plants as exemplified in *Helianthus tuberosus L.*", New Phytologist, 67(1968) 517-531.

[75]Edelman, J., Dickerson, A.G., "The metabolism of fructose polymers in plants, The Biochemical Journal, 98(1966) 787-794.

[76]Van Laere, A., Van den Ende, W., "Inulin metabolism in dicots: Chicory as a model system", Plant Cell and Environment, 25(2002) 803-813.

[77]Koops, A.J., Jonker, H.H, "Purification and characterization of the enzymes of fructan biosynthesis in tubers of *Helianthus tuberosus* Colombia.II. Purification of sucrose: sucrose 1-fructosyltransferase and reconstitution of fructan synthesis in vitro with purified sucrose: sucrose 1fructosyltransferase and fructan: fructan 1-fructosyltransferase", Plant Physiologist, 110(1996) 1167-1175.

[78]Van den Ende, W., Van Laere, A., "De-novo synthesis of fructans from sucrose in vitro by a combination of two purified enzymes (sucrose: sucrose 1-fructosyltransferase and ructan: fructan 1-fructosyltransferase) from chicory roots (*Cichorium intybus* L.)", Planta, 200(1996) 335-342.

[79]Warnot, F., "Recherche de marqueurs glucidiques et protéiques lies au stade de maturité de la racine de chicorée industrielle", Thèse de doctorat, Université des Sciences et Technologies de Lille, (1997).

[80]Frehner, M., Keller, F., Wiemken, A., "Localization of fructan metabolism in the vacuoles isolated from protoplasts of jeusalem artichoke tubers (*Helianthus tuberosus* L.)", Journal of Plant physiologist, 116(1984) 197-208.

[81]Edelman, J., Jefford, T.G., "The metabolism of fructose polymers in plants.4. β-fructofuranosidases of tubers of *Hilianthus tuberosus* L.", Biochemical Journal, 93(1964) 148-161.

[82]El Yachioui, M., "Production et étude d'une β-fructofuranosidase bactérienne", Thèse de doctorat en Biologie et Physiologie Végétales, Université des Sciences et Techniques de Lille Flandres Artois, (1986), № 60.

[83]Rehm, J., Willmitzer, L., Heyer, A.G., "Production of 1-kestose in transgenic yeast expressing a fructosyltransferase from Aspergillus Foetidus", Journal of bacteriology, 180 (1998) 1305-1310.

[84]Corradini, C., Bianchi, F., Mateuzzi, D., Amoretti, A., Rossi, M., Zanoni, S., "High-performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detection and capillary zone electrophoresis with indirect ultra violet detection as powerful tools to evaluate prebiotic properties of fructooligosaccharides and inulin", Journal of Chromatography A, 1054 (2004)165-173.

[85]Bosscher, D., Van Loo, J., Franck, A., "Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization", International Dairy Journal, 16(2006) 1092-1097.

[86]Chi, Z.M., Zhang, T., Cao, T.S., Liu, X.Y., Cui, W., Zhao, C.H., "Biotechnological potential of inulin for bioprocesses", Bioresource Technology, 102(2011)4295-4303.

[87]Meyer, D., "Chapter 30: Inulin in Handbook of hydrocolloids", CRC Press, Woodhead Publiching Limited, 2nd Edition, (2009), pp 829-848.

[88]Silva, R.F., "Use of inulin as a natural texture modifier", Cereal Foods World, 41(1996) 792-794.

[89]Kim, Y., Faqih, M.N., Wang, S.S., "Factors affecting gel formation of inulin", Carbohydrate Polymers, 46(2001) 135-145.

[90] Wada, T., Sugatani, E., Terada, M., Ohguchi, M., Miwa, M., "Physicochemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53(2005) 1246-1253.

[91] Atia, A., "Développement d'une matrice prébiotique pour l'encapsulation des probiotiques bactériocinogènes, destinée à l'alimentation animale. De la physicochimie à la biopharmacie", Thèse de doctorat en Science et Technologie des aliments, Université de Laval, (2016).

[92]Dan, A., Ghosh, S., Moulik, S.P., "Physicochemical studies on the biopolymer inulin: A critical evaluation of its self-aggregation, aggregate-morphology, interaction with water and thermal stability", Biopolymers, 91 (2009) 687-699.

[93] Leite Toneli, J.T.C., Park, K.J., Ramalho, J.R.P., Murr, F.E.X., Fabbro, I.M.D., "Rheological characterization of chicory root (*Cichorium intybus* L.)inulin solution", Brazilian Journal of Chemical Engineering, 25(2008) 461-471.

[94] Dey, P.C., Motin, M.A., Biswas, T.K., Huque, E.M., "Apparent molar volume and viscosity studies on some carbohydrates in solutions", Monatshefte Für Chemie, 134(2003) 797-809.

[95]Bot, A., Erle, U., Vreeker, R., Agterof, W.G.M., "Influence of crystallization conditions on the large deformation rheology of inulin gels". Food Hydrocolloids, 18(2004) 547-556.

[96]Zimeri, J.E., Kokini, J.L., "Rheological properties of inulin-waxy maize starch systems". Carbohydrate Polymers, 52(2003) 67-85.

[97]Nogueira, R.I., "Processo dde obtenção de inulina de chicória (Cichorium intybus) ", Thèse de Doctorat, Faculté de Génie Agricole, Université Estadual de Campinas, (2001).

[98]Bishay, I.E., "Rheological characterization of inulin In Gums and stabilizers for the food industry", Royal Society of Chemistry, London, (1998).

[99] Naskar, B., Dan, A., Ghosh, S., Moulik, S.P., "Viscosity and solubility behavior of the polysaccharide inulin in water, water +Dimethylsulfoxide, and water+isopropanol media", Journal of Cemical Engineering data, 55(2010) 2424-2427.

[100]Kim, Y., Wang, S.S., "Kinetic study of thermally induced inulin gel", Journal of Food Science, 66(2001) 991-997.

[101]Chiavaro, E., Vittadini, E., Corradini, C., "Physicochemical characterization and stability of inulin gels", European Food Research and Technology, 225(2007) 85–94.

[102]Hébette, C.L.M., Delcour, J.A., Koch, M.H.J, Booten, K., Kleppinger, R., Mischenko, N., Reynaers, H., "Complex melting of semi-crystalline chicory (Cichorium intybus L.) root inulin", Carbohydrate Research, 310(1998) 65-75.

[103]Meyer, D., Bayarri, S., Tárrega, A. Costell, E., "Inulin as texture modifier in dairy products", Food Hydrocolloids, 25(2011) 1881-1890.

[104]El-Nagar, G., Glowers, G., Tudorica, C.M., Kuri, V., "Rheological quality and stability of yog-ice cream with added inulin", International Journal of Dairy Technology, 55(2002) 89-93.

[105]Carabin, I.G., Flamm, W.G., "Evaluation of safety of inulin and oligofructose as dietary fiber", Regulatory Toxicology and Pharmacology, 30(1999) 268-282.

[106]Goh, Y.J., Zhang, C., Benson, A.K., Schlegel, V., Lee, J.-H., Hutkins, R.W., "Identification of a putative operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus paracasei*", Applied and Environmental Microbiology, 72(2006) 7518-7530.

[107]Kaplan, H., Hutkins, R.W., "Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria", Applied and Environmental Microbiology, 66(2000) 2682-2684.

[108]Kaplan, H., Hutkins, R.W.,"Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195",Applied and Environmental Microbiology, 69(2003) 2217-2222.

[109]Makras, E., Van Acker, G., De Vuyst, L., "The prebiotic strain *Lactobacillus paracasei subsp. Paracasei* 8700:2 degrades inulin-type fructans of different degrees of polymerization". Applied and Environmental Microbiology, 71(2005) 6531-6537.

[110]Falony, G., Lazidou, K., Verschaeren, A., Weckx, S., Maes, D., De Vuyst, L., "In vitro kinetic analysis of fermentation of prebiotic inulin-type fructans by bifidobacterium species reveals four different phenotypes", Applied and Environmental Microbiology, 75(2009) 454-461.

[111]Van der Meulen, R., Markas, E., Verbrugghe, K., Adriany, T., De Vuyst, L., "In vitro kinetic analysis of oligofructose consumption by *Bacteroides* and *Bifidobacterium spp.* Indicates different degradation mechanisms", Applied and Environmental Microbiology, 72(2006) 1006-1012.

[112]Hartemink, R., Van Laere, K.M.J., Rombouts, F.M., "Growth of enterobacteria on fructo-oligosaccharides", Journal of Applied Microbiology, 83(1997) 367-374.

[113]Ducan, S.H., Hold, G.L., Barcenilla, A., Stewart, C.S., Flint, H.J., "*Roseburia, intestinalis sp.*nov., a novel sacccharolytic, butyrate-producing bacterium from human faeces", International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 52(2002) 1615-1620.

[114]De Vuyst, L., Leroy, F., "Cross-feeding between bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria explains bifidobacterial competitiveness, butyrate production and gas production", International Journal of Food Microbiology, 149(2011) 73-80.

[115]Alles, M.S., Hautvast, J.G.A., Nagengast, F.M., Hartemink, R., Van Laere, K.M.J., Jansen, J.B.M., "Fate of fructooligosaccharides in the human intestine", British Journal of Nutrition, 76(1996) 211-221.

[116]Gibson, G.R., Roberfroid, M.R., "Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics", Journal of Nutrition, 125(1995) 1401-1412.

[117]Meyer, D., "inulins for product development of low GI products to support weight managment. In: Dietary Fibre components and functions", Wageningen Academic Publishers, Wageningen, the Netherlands, (2007), pp 257-270.

[118]Meyer, D., Stasse-wolthuis, M., "Inulin and bone health", Current Topics in Nutraceutical Research, 4(2006)211-226.

[119]Scholz-Ahrens, K.E., Acil, Y., Schrezenmeir, J., "Effect of oligofructose or dietary calcium on repeated calcium and phosphorus balances, bonne mineralization and trabecular structure in ovariectomized rats", British Journal of Nutrition, 88(2002) 365-378.

[120]Abrams, S.A., Griffin, I.J., Hawthorne, K.M., Liang, L., Gunn, S.K., Darlington, G., Ellis, K.J.., "A combination of prebiotic short- andlong-chain inulin-type fructans enhances calcium absorption and bone mineralization in young adolescents", The American Journal of Clinical Nutrition, 82(2005) 471-476.

[121] Causey, J.L., Feirtag, J.M., Gallaher, D.D., Tungland, B.C., Slavin, J.L., "Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men", Nutrition Research, 20(2000) 191-201.

[122]Pedersen, A., Sandström, B., Van Amelsvoort, J.M., "The effect of ingestion of inulin on blood lipids and gastrointestinal symptoms in healthy females", British Journal of Nutrition, 78 (1997) 215-222.

[123]Beylot, M., "Effects of inulin-type fructans on lipid metabolism in man and in animal models", British Journal of Nutrition, 93 (2005) S163-S168.

[124]Archer, B.J., Hohnson, S.K., Devereux, H.M., Baxter, A.L., "Effect of fat replacement by inulin or lupin-kernel fibre on sausage patty acceptability, post-meal perceptions of satiety and food intake in men", British Journal of Nutrition, 91(2004) 591-599.

[125]Cani, P.D., Joly, E., Horsmans, Y., Delzenne, N.M., "Oligofructose promotes satiety in healthy human: a pilot study", European Journal of Clinical Nutrition, 60(2006) 567-572.

[126]Femia, A.P., Luceri, C., Dolara, P., Giannini, A., Biggeri, A., Salvadori, M., Clune, Y., Collins, K.J., Paglierani, M., Caderni, G., "Antitumorigenic activity of the prebiotic inulin enriched with oligofructos in combination with the probiotics Lactobacillus rhamnosus and Bifidobacterium lactis on azoxymethane-induced colon carcinogenesis in rats", Carcinogenesis, 23(2002) 1953-1960.

[127]Rafter, J., Bennett, M., Caderni, G., Clune, Y., Hughes, R., Karlsson, P.C., Klinder, A., A'riordan, M., O'sullivan, G.C., Pool-Zobel, B., Rechkemmer, G., Roller, M., Rowland, I., Salvadori, M., Thijs, H., Van Loo., J., Watzi, B., Collins, J.K., "Dietary synbiotics reduce cancer risk factors in polypectomized and colon cancer patients", The American Journal of Clinical Nutrition, 85(2007) 488-496.

[128]Gibson, G.R., Beatty, E.R., Wang, X., Cummings, J.H., "Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin", Gastroenterology, 108(1995) 975-982.

[129]Villegas, B., Carbonell, I., Costell, E., "Inulin milk beverages: sensory differences in thickness and creaminess using r-index análisis of the ranking data", Journal of Sensory Studies, 22(2007) 377–393.

[130]Debon, J., Prudencio, E.S., Petrus, J.C.C., "Rheological and physico-chemical characterization of prebiotic microfiltered fermented milk", Journal of Food Engineering, 99(2010) 128-135.

[131]Schaller-Povolny, I.A., Smith, D.E, "Sensory attributes and storage life of reduced fat ice cream as related to inulin content", Journal of Food Science, 64(1999) 555-559.

[132] Schaller-Povolny, I.A., Smith, D.E, "Viscosity and freezing point of a reduced fat ice cream mix as related to inulin content". Milchwissenschaft- Mlik Science International, 56(2001) 25-29.

[133]Hinrichs, W.L.J., Prinsen, M.G., Frijlink, H.W., "Inulin glasses for the stabilisation of therapeutic proteins", International Journal of Food Pharmaceutics, 215(2001) 163-174.

[134]Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., Petrovsky, N., "Inulin-a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses", Journal of Excipients and Food Chemistry, 3(2010) 27-50.

[135]Mensink, M.A., Frijlink, H.W., van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W.L., "Inulin, a flexible oligosaccharide II : review of its pharmaceutical applications", Carbohydrate Polymers, (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.cerbpol.2015.08.022

[136] Grasmeijer, N., Stankovic, M., de Waard, H., Frijlink, H.W, Hinrichs, W.L.J., "Unraveling protein stabilization mechanisms: Vitrification and water replacement in a glass transition temperature controlled system", Biochimica et Biophysica Acta (BBA), 1834(2013) 763-769.

[137] Hadj-Ahmed, R.R., Elkordy, A.A., Chaw, C.S., Moore, A., "Compare and contraste the effects of surfactants (Pluronic®F-127 and Cremophor®EL) and sugars (β-cyclodextrin

and inulin) on properties of spray dried and crystallised lysozyme". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 49 (2013) 519-534.

[138]Saluja, V., Amorij, J.-P., Kapteyn, J.C., de Boer, A.H., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., "A comparison between spray drying and spray freeze drying to produce an influenza subunit vaccine powder for inhalation", Journal of Controlled Release, 144(2010) 127-133.

[139]Amorij, J.-P, Saluja, V., Petersen, A.H, Hinrichs, W.L.J., Huckriede, A., Frijlink, H.W., "Pulmonary delivery of an inulin-stabilized influenza subunit vaccine prepared by spray-freeze drying induces systemic, mucosal humoral as well as cell-mediated immune responses in BALB/c mice", 25(2007) 870-8717.

[140] Rodríguez Furlán, L.T., Lecot, J., Pérez Padilla, A., Campderrós, M.E., Zaritzky, N., "Effect of saccharides on glass transition temperatures of frozen and freeze dried bovine plasma protein", Journal of Food Engineering, 106, (2011), 74-79.

[141] Rodríguez Furlán, L.T., Pérez Padilla, A., Campderrós, M.E., "Inulin like lyoprotectant of bovine plasma proteins concentrated by ultrafiltration", Food Research International, 43(2010) 788-796.

[142] Rodríguez Furlán, L.T., Pérez Padilla, A., Campderrós, M.E., "Development of a functional beverage formulation with high protein content, inulin and stevia", International Journal of Food Engineering, 7(2011) 1-16.

[143]Tonnis, W.F., Mensink, M.A., de Jager, A., van der Voort Maarschalk, K., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., "Size and molecular flexibility of sugars determine the storage stability of freeze-dried proteins", Molecular Pharmaceutics, 12(2015) 684-694.

[144]Wahjudi, M., Murugappan, S., van Merkerk, R., Eissens, A.C., Visser, M.R., Hinrichs, W.L.J., Quax, W.J., "Development of a dry, stable and inhalable acyl-homoserine-lactone-acylase powder formulation for the treatment of pulmonary Pseudomonas aeruginosa infections", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 48(2013) 637-643.

[145]Amorij, J.-P., Meulenaar, J., Hinrichs, W.L.J., Stegmann, T., Huckriede, A., Coenen, F., Frijlink, H.W., "Rotational design of an influenza subunit vaccine powder with sugar glass technology: Preventing conformational changes of haemagglutinin during freezing and freeze-drying". Vaccine, 25(2007) 6447-6457.

[146]Stanković, M., deWaard, H., Steendam, R., Hiemstra, C., Zuidema, J., Frijlink, H.W., Hinrichs, W.L.J., "Low temperature extruded implants based on novel hydrophilic

multiblock copolymer for long-term protein delivery". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 49(2013) 578-587.

[147]Hinrichs, W.L.J., Manceñido, F.A., Sanders, N.N., Braeckmans, K., de Smedt, S.C., Demmester, J., Frijlink, H.W., "The choice of a suitable oligosaccharide to prevent aggregation pf PEGylated nanoparticles during freeze thawing and freeze drying", International Journal of Pharmaceutics, 311(2006) 237-244.

[148]Hinrichs, W.L.J., Sanders, N.N., de Smedt, S.C, Demmester, J., Frijlink, H.W., "Inulin is a promising cryo- and lyoprotectant for PEGylated lipoplexes", Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society, 103(2005) 465-479.

[149]Ayen, W.Y., Kumar, N., "A systematic study on lyophilization process of polymersomes for long-term storage using doxorubicin-loaded (PEG) 3-PLA nanopolymersomes". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 46(2012) 405-414.

[150]De Jonge, J., Amorij, J.-P, Hinrichs, W.L.J., wilschut, J., Huckriede, A., Frijlink, H.W., "Inuline sugar glasses preserve the structural integrity and biological activity of influenza virosomes during freeze-drying and storage". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 32(2007) 33-44.

[151]Audouy, S.A.L., van der Schaaf, G., Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., Wilschut, J., Huckriede, A., "Development of a dried influenza whole inactivated virus vaccine for pulmonary immunization", Vaccine, 29(2011) 4345-4352.

[152]Chen, S., Guo, D., Guo, B., Liu, J., Shen, Y., Xu, X., Huang, W., Guo, S., "Investigation on formulation and preparation of adenovirus encoding human endostation lyophilized powders", International Journal of Pharmaceutics, 427 (2012), 145-152.

[153]Srinarong, P., Faber, J.H., Visser, M.R., Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., "Strongly enhanced dissolution rate of fenofibrate solid dispersion tablets by incorporation of superdisintegrants", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 73(2009) 154-161.

[154] Van Drooge, D.-J, Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., "Anomalous dissolution behaviour of tablets prepared from sugar glass-based solid dispersions", Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society, 97(2004)441-452.

[155] Van Drooge, D.-J, Hinrichs, W.L.J., Wegman, K.A.M., Visser, M.R., Eissens, A.C., Frijlink, H.W., "Solid dispersions based on inulin for the stabilisation and formulation of Δ9-tetrahydrocannabinol". European Journal of Pharmaceutical Sciences, 21(2004) 511-518.

[156]Visser, M.R., Baert, L., Klooster, G., V., Schuller, L., Geldof, M., Vanwelkenhyusen, I., de Kock, H., de Meyer, S., Frijlink, H.W., Rosier, J., Hinrichs, L.J., "Inulin solid dispersion technology to improve the absorption of the BCS class IV drug TMC240", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 74(2010) 233-238.

[157]Crum, M., Elkordy, A.A., Zarara, M., Elkordy, E.A., "In situ lyophilisation of nifedipine directly in hard gelatine capsules", Pharmaceutical Development and Technology, 18(2013) 1379-1390.

[158]Fares, M.M., Salem, M.S., Khanfar, M., "Inulin and poly(acrylic acid) grafted inulin for dissolution enhancement and preliminary controlled release of poorly water-soluble irbesartan drug", International Journal of Pharmaceutics, 41(2011) 206-211.

[159]Eissens, A.C., Bolhuis, G.K., Hinrichs, W.L.J., Frijlink, H.W., "Inulin as filler-binder for tablets prepared by direct compaction", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 15(2002) 31-38.

[160]Eriksson, H.J.C, Hinrichs, W.L.J., van Veen, B., Somsen, G.W., de Jong, G.J., Frijlink, H.W., "Investigations into the stabilisation of drugs by sugar glasses: I.Tablets prepared from stabilised alkaline phosphatase", International Journal of Pharmaceutics, 249(2002) 59-70.

[161]Cooper, P.D., Petrovsky, N., "Delta inulin : a novel, immunologically active, stable packing structure comprising-β-D-[2→1] poly(fructo-furanosyl)-α-D-glucose polymers". Glycobiology, 21(2011) 595-606.

[162]Honda-Okubo, Y., Saade, F., Petrovsky, N., "Advax^{TM}, a polysaccharide adjuvant derived from delta inulin, provides improved influenza vaccine protection through broad-based enhancement of adaptive immune responses". Vaccine, 30(2012) 5373-5381.

[163]Murugappan, S., Frijlink, H.W., Petrovsky, N., Hinrichs, W.L.J., "Enhanced pulmonary immunization with aerosolized inactivated influenza vaccine containing delta inulin adjuvant", European Journal of Pharmaceutical Sciences, 66(2015) 118-122.

[164]Gordon, D., Kelley, P., Heinzel, S., Cooper, P., Petrovsky, N., "Immunogenicity and safety of Advax TM, a novel polysaccharide adjuvant based on delta inulin, when formulated with hepatits B surface antigen: A randomized controlled Phase1 study", Vaccine, 32(2014) 6469-6477.

[165]Honda-Okubo, Y., Kolpe, A., Li, L., Petrovsky, N., "A single immunization with inactivated H1N1 influenza vaccine formulated with delta inulin adjuvant (Advax^{TM})

overcomes pregnancy-associated immune suppression and enhances passive neonatal protection". Vaccine, 32(2014) 4651-4659.

[166]Kumar, S., Tummala, H., "Development of soluble inulin microparticles as a potent and safe vaccine adjuvant and delivery system", Molecular Pharmaceutics, 10(2013) 1845-1853.

[167]Orlando, R., Floreani, M., Padrini, R., Palatini, P.,"Determination of inulin clearance by bolus intravenous injection in healthy subjects and ascitic patients: equivalence of systemic and renal clearances as glomerular filtration markers". British Journal of Clinical Pharmacology, 46(2002) 605-609.

[168]Zhu, Z., Study of pulsed electric fields (PEF) assisted inulin extraction from chicory root and chicory juice purification, Thèse de Doctorat, Génie des Procédés Industriels et Développement Durable, Université de Technologie Compiègne UTC, 2004.

[169]De Leenheer, L., "Chapter 4, Production and use of inulin: Idustrial reality with a promising future In Carbohydrates as Organic Raw Materials III", CFC Carbohydrate research foundation, 1996, pp 67-92.

[170]Lou, Z., Wang, H., Wang, D., Zhang, Y., "Preparation of inulin and phenols-rich dietary fibre powder from budrock root", Carbohydrate polymers, 78(2009) 666-671.

[171]Paseephol, T., Small, D., Sherkat, F., "Process optimization for fractionating Jerusalem artichoke fructans with ethanol using responses surface methodology", Food chemistry, 104(2007)73-80.

[172]Abozed,S.S., Abdelrashid, A., El-Kalyoubi, M., Hamad, K.I., "Production of inulin and high fructose syrup from Jerusalem artichoke tuber (Hilianthus tuberosus L.)", Annals of Agricultural Sciences, 54(2009) 417-423.

[173]Abou-Arab, A.A., Talaat, H.A., Abu-salem, F.M., "Physico-chemical properties of inulin produced from Jerusalem artichoke tubers on bench and pilot plant scale", Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5(2011) 1297-1309.

[174]Leite Toneli, J.T.C., Mürr, F.E.X., Martinelli, P., Dal Fabbro, I.M., Park, K.J., "Optimization of a physical concentration process for inulin", Journal of food engineering, 80(2007) 832-838.

[175]Dobre, T., Stroescu, M., Stoica, A., Draghici, E., Antohe, N.,"Inulin extraction and encapsulation", Chemical Bulletin of Polytechnica university of Timisoara, 53(2008) 215-217.

[176]Petkova, N., Ognyanov, M., Todorova, M., Denev, P., "Ultrasound-assisted extraction and characterisation of inulin-type fructan from roots of elecampane (*Inula helenium* L.)", Acta Scientifica Naturalis, 1(2015) 225-235.

[177]Yang, Z., Hu, J., Zhao, M., "Isolation and quantitative determination of inulin-type oligosaccharides in roots of Morinda Officinalis", Carbohydrate polymers, 83(2011) 1997-2004.

[178]Waleckx, E., Gschaedler, A., Colonna-Ceccaldi, B., Monsan, P., " Hydrolysis of fructans from Agave tequilana Weber Var. azul during the cooking step in a traditional tequila elaboration process", Food Chemistry, 108(2008) 40-48.

[179]Brokl, M., Hernández- Hernández, O., Soria, A.C., Sanz, M.L., "Evaluation of different operation modes of high performance liquid chromatography for the analysis of complex mixtures of neutral oligosaccharides", Journal of Chromatography A, 1218 (2011) 7697-7703.

[180]Zouambia, Y., Fonctionnalisation des polysaccharides en vue de la préparation des dérivés amphiphiles associatifs. Etude comparative des propriétés physicochimiques, Thèse de Doctorat, Faculté de Technologie, Université Saad Dahleb –Blida, (2012).

[181]Coussement, P., "Inulin and oligofructose as dietary fiber: Analytical, nutritional and legal aspects. In complex carbohydrates in foods", CRC Press Marcel Dekker, New York, (1999), pp 203-227.

[182]Henshall, A., "High performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection (HPAE-PAD): A powerfull tool for the analysis of dietary fiber and complex carbohydrates. In Complexe carbohydrates in food", CRC Press Marcel Dekker, New York, (1999), pp 267-289.

[183]Joye, D., Hoebregs, H., "Determination of oligofructose, a soluble dietary fiber, by high-temperature capillary gas chromatography", Journal of AOAC International, 83(2000) 1020-1025.

[184]Cataldi, T.R.I., Campa, C., De Benedetto, G.E., "Carbohydrate analysis by high performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection: The potential still growing", Fresenius Journal of Analytical Chemistry, 368(2000)739-758.

[185]Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Johnston, M.R., Cooper, P.D., Petrovsky, N., "Analysis of the hydrolysis of inulin using real time H-1 NMR spectroscopy", Carbohydrate Research, 352(2012) 117-125.

[186]Yalpani, M., "Chemistry of polysaccharide modification and degradation, In Carbohydrate: structure, synthesis and dynamics", Dorcrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publichers, (1999), pp 294-318.

[187]Kays, S.J., Nottingham, S.F., "Chemical composition and inulin chemistry, in Biology and chemistry of jerualem artichoke Hilianthus tuberosus L.", CRC Press, Taylor and Francis Group, (2008), pp 75-90.

[188]Bruson, H.A., "Cyanoethylation In Organic Reactions", John Wiley and Sons, Inc., (2011), pp79–135.

[189]Rajasekaran, A., Thampi, P.P., Murugesan, S., "Cyanoethylation: A vital reaction in the synthesis of biologically active heterocycles", Asian Journal of Chemistry, 16(2004)1-8.

[190]Verraest, D.L., da Silva, L.P., Peters, J.A., van Bekkum, H., "Synthesis of Cyanoethyl inulin, aminopropyl inulin and carboxyethyl inulin", Starch/Stärke, 48(1996) 191-195.

[191]Stevens, C.V., Meriggi, A., Booten, K., "Chemical modification of inulin, a valuable renewable resource, and its industrial applications", Biomacromolecules, 2(2001) 1-15.

[192]Bognolo, G., "Nonionic surfactants In Lipid technologies and applications", Marcel Dekker, New York, (1997), pp 633-693.

[193]Rogge, T.M., Stevens, C.V., "Facilitated synthesis of inulin esters by transesterifiction", Biomacromolecules, 5(2004) 1799-1803.

[194]Van Dam, P.H., Winkel, C., Visser, A., "Fractionation of triglyceride oils", U.S.Patent 5872270, (1999).

[195]Tomecko, C.G., Adams, R., "The allyl ethers of various carbohydrates", Journal of the American Chemical Society, 45(1923)2698-2701.

[196]Schacht, E., Ruys, L., Vermeersch, J., Remon, J.P., "Polymer-drug combinations: Synthesis and characterization of modified polysaccharides caontaining procainamide moieties", Journal of Controlled Release, 1(1984) 33-46.

[197]Kunz, M., Haji, B.A., "Inulin derivatives, process for their preparation and their use", EU Patent Office, Patent No.EP 638589 A1, (1995).

[198]Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Chemical hydrophobic modification of inulin in aqueous media: synthesis of β-hydroxyalkyl ethers of inulin", Carbohydrate Polymers, 81(2010) 681-686.

[199]Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Synthesis of β-hydroxyalkyl ethers of inulin in aqueous surfactant media", Carbohydrate Polymers, 82(2010)1168-1173.

[200]Irvine, J.C., Steele, E.S., "The constitution of polysaccharides, Part I. the relationship of inulin to fructose", Journal of Chemical Society, 117(1920) 1474-1489.

[201]Karrer, P., Lang, L., "Polysaccharides, V. Methylation of inulin", Helvetica ChimicaActa, 4(1921) 249-256.

[202] Okamoto, Y., Hatada, K., "Separation agent comprising polysaccharide carbamate", EU Patent 157365, (1985) http://www.google.com.ar/patents/EP0157365A2?cl=en

[203]Stevens, C.V., Meriggi, A., Peristeropoulou, M., Christov, P.P., Booten, K., Levecke, B., Vandamme, A., Pittevils, N., Tadros, T.F., "Polymeric surfactants based on inulin, a polysaccharide extracted from chicory. 1. Synthesis and interfacial properties", Biomacromolecules, 2(2001) 1256-1259.

[204]Tadros, T.F., Vandamme, A., Levecke, B., Booten, K., Stevens, C.V., "Stabilization of emulsions using polymeric surfactants based on inulin", Advances in Colloid and Interface Science, 108 (2004) 207-226.

[205]Kennedy, J.F., Tun, H.C., "Preparation of carbonates of polysaccharides and cycloamyloses", Carbohydrate research, 26(1973) 401-408.

[206] Won, C.-Y., Chu, C.-C., "Inulin polysaccharide having pendant amino acids: synthesis and characterization", Journal of Applied Polymer Science, 70(1998) 953-963.

[207] Verraest, D.L., Peters, J.A, Batelaan, J.G., van Bekkum, H., "Carboxymethylation of inulin", Carbohydrate research, 271(1995) 101-112.

[208] Verraest, D.L., Peters, J.A, van Bekkum, H., van Rosmalen, G.M., "Carboxymethyl inulin: a new inhibitor for calcium carbonate precipitation", Journal of the American Oil Chemists' Society, 73(1996) 55-62.

[209]Berghofer, E., Cramer, A., Schiesser, E., "Chemical modification of chicory root inulin, in Inulin and inulin containing crops", 1st edition, Elsevier, Amsterdam, (1993), pp 135-142.

[210]Ludtke, M., "Inulin phosphoric acid", Biochemische, Zeitschrift, 212(1929) 475-476.

[211]Besemer, A.C., Van Bekkum, H., "The relation between calcium sequestring capacity and oxidation degree of dicarboxy-starch and dicarboxy-inulin", Starch, 46(1994) 419-422.

[212] Besemer, A.C, van Bekkum, H., "The hypochlorite oxidation of inulin", Recueil des Travaux Chimiques des Pays-Bas, 113(1994) 398-402.

[213]Besemer, A.C., van Bekkum, H., "The catalytic effect of bromide in the hypochlorite oxidation of linear dextrins and inulin", Starch, 46(1994) 101-106.

[214]Verraest, D.L., Peters, J.A., van Bekkum, H., "the platinum-catalyzed oxidation of inulin", Carbohydrate Research, 306(1998) 197-203.

[215] de Nooy, A.E.J., Besemer, A.C.,van Bekkum, H., "highly selective temperature mediated oxidation of primary alcohol groups in polysaccharides", Recueil des Travaux Chimiques de Pays-Bas, 113(1994)165-166.

[216]de Nooy, A.E.J., Besemer, A.C, van Bekkum, H., "Highly selective temperature mediated oxidation of primary alcohol groups in water-soluble glucans", Carbohydrate Research, 269(1995) 89-98.

[217]de Nooy, A.E.J., Pagliaro, M., van Bukkum, H., Besemer, A.C, "Autocatalytic oxidation of primary hydroxyl functions in glucans with nitrogen oxides", Carbohydrate Research, 304(1997) 117-123.

[218] Kuzee, H.C., Bolkenbaas M.E.B., Jonker, R., "Fructan derivatives", US 20020082399 A1, 2002, https://www.google.ch/patents/US20020082399.

[219] Vervoort, L., van den Mooter, G., Augustijns, P., Busson, R., Toppet, S., Kinget, R., "Inulin hydrogels as carriers for colonic drug targeting, I. synthesis and characterization of metacrylated inulin and hydrogel formation", Pharmaceutical Research, 14(1997) 1730-1737.

[220]Vervoort, L., Vinckier, I., Moldenaers, P., Van den Mooter, G., Augustijns, P., Kinget, R., "Inulin hydrogels as carriers for colonic drug targeting, Rheological characterization of the hydrogel formation and the hydrogel network", Journal of Pharmaceutical Science, 88(1999) 209-214.

[221]Dergunov, S.A, Nam, I.K., Maimakov, T.P., Nurkeeva, Z.S., Shaikhutdinov, E.M., Mun, G.A., "Study on radiation-induced grafting of hydrophilic monomers onto chitosan", Journal of Applied Polymer Science, 110(2008) 558-563.

[222]Puoci, F., Iemma, F., Curcio, M., Parisi, O., Cirillo, G., Spizzirri U.G., Picci, N., "Synthesis of methacrylic-ferulic acid copolymer with antioxidant properties by single-step free radical polymerization", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(2008) 10646-10650.

[223]Spizzirri, U.G., Iemma, F., Puoci, F., Cirillo, G., Curcio, M., Parisi, O.I., Picci, N., "Synthesis of antioxidant polymers by grafting of gallic acid and catechin on gelatin", Biomacromolecules, 10(2009) 1923-1930.

[224]Kitagawa, M., Tokiwa, Y., "Polymerization of vinyl sugar ester using ascorbic acid and hydrogen peroxide as a redox reagent", Carbohydrate Polymers, 64(2006) 218-223.

[225]Curcio, M., Puoci, F., Iemma, F., Parisi, O.I., Cirillo, G., Spizzirri, U.G., Picci, N., "Covalent insertion of antioxidant molecules on chitosan by a free radical grafting procedure", Journal of Agricultural and food chemistry, 57(2009)5933-5938.

[226]Spizzirri, U.G., Altimari, I., Puoci, F., Parisi, O.I., Iemma, F., Picci, N., "Innovative antioxidant thermo-responsive hydrogels by radical grafting of catechin on inulin chain", Carbohydrate Polymers, 84(2011) 517-523.

[227] Cirillo, G., Kraemer, K., Fuessel, S., Puoci, F., Curcio, M., Spizzirri, U.G., Picci, N., "Biological activity of a gallic acid-gelatin conjugate", Biomacromolecules, 11(2010) 3309-3315.

[228]Liu, J., Lu, J.-F., Kan, J., Wen, X.-Y., Jin, C.-H., "Synthesis, characterization and in vitro anti-diabetic activity of catechin grafted inulin", International Journal of Biological Macromolecules, 64(2014) 76-83.

[229]Tadros, Th.F., Vandamme, A., Booten, K., Levecke, B., Stevens, C.V., "Stabilization of emulsions using hydrophobically modified inulin (polyfructose)", Colloids and Surfaces A. Physicochemical and Engineering Aspects, 250(2004) 133-140.

[230]Tadros, T., "Polymeric surfactants in disperse systems", Advances in Colloid and Interface Science, 147(2009) 281-299.

[231] D. Exerowa, D., Gotchev, G., kolarov, T., Kristov, Khr., Levecke, B., Tadros, Th., "Oil-in-water emulsion films stabilized by polymeric surfactants based on inulin with different degree of hydrophobic modification", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 334(2009) 87-91.

[232]Khristov, K., Czarnecki, J., "Emulsion films stabilized by natural and polymeric surfactants", Current Opinion in Colloids and Interface Science, 15(2010)324- 329.

[233]Gochev, G., Petkova, H., Kolarov, T., Khristov, Khr., Levecke, B., Tadros, Th.F., Exerowa, D., "Effect of grafting in hydrophobically modified inulin polymeric surfactants on the steric forces in foam and oil-in-water emulsion films", Colloids and surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 391(2011) 101-104.

[234]Morros, J., Infante, M.R., Pons, R., "Surface activity and aggregation of pristine and hydrophobically modified inulin", The Royal Society of Chemistry, soft matter, 8(2012) 11353-11362.

[235]Morros, J., Levecke, B., Infante, M.R., "Hydrophobically modified inulin from alkenyl succinic anhydride in aqueous media", Carbohydrate Polymers, 84(2011)1110-1116.

[236]Kokubun, S., Ratcliffe, I., Williams, P.A., "The emulsification properties of octenyl- and dodecenyl-succinylated inulin", Food hydrocolloids, 50(2015) 145-149.

[237]Pitarresi, G., Giacomazza, D., Triolo, D., Giammona, G., San Biagio, P.L., "Rheological characterization and realize properties of inulin-based hydrogels", Carbohydrate Polymers, 88(2012) 1033-1040.

[238]Van den Mooter, G., Vervoort, L., Kinget, R., "Characterization of methacrylated inulin hydrogels designed for colon targeting: in vitro release of BSA", Pharmaceutical Research, 20(2003) 303–307.

[239] Maris, B., Verheyden, L., Van Reeth, K., Samyn, C., Augustijns, P., Kinget, R., Van den Mooter, G., "Synthesis and characterisation of inulin-azo hydrogels designed for colon targeting", International Journal of Pharmaceutics, 213 (2001)143–152.

[240]Castelli, F., Sarpieto, M.G., Micieli, D., Ottimo, S., Pitarresi, G. Tripodo, G., Carlisi, B., Giammona, G., "Differential scanning calorimetry study release from an inulin-based hydrogel and its interaction with a biomembrane model: pH and loading effect", European journal of pharmaceutical sciences, 35(2008) 76-85.

[241]Tripodo, G., Pitarresi, G., Cavallaro, G., Palumbo, F. S., & Giammona, G., "Controlled release of IgG by novel UV induced polysaccharide/poly(amino acid) hydrogels", Macromolecular Bioscience, 9(2009) 393-401.

[242]Izawa, K., Akiyama, K., Abe, H., Togashi, Y., Hasegawa, T., "Inulin-based glycopolymer: Its preparation, lectin-affinity and gellation property", Bioorganic and medicinal chemistry, 21(2013) 2895-2902.

[243]Poulain, N., Dez, I., Perrio, C., Lasne, M.-C., Prud'homme, M.-P., Nakache, E., "Microspheres based on inulin for the controlled release of serine protease inhibitors: preparation, characterization and in vitro release", Journal of Controlled Release, 92(2003) 27-38.

[244]Öner, M, Uysal, U., "Synthesis of hydroxyapatite crystals using carboxymethyl inulin for use as a delivery of ibuprofen", Materials Science and Enginnering C, 33(2013) 482-489.

[245]Robert, P. García, P., Reyes, N., Chávez, J. Santos, J., "Acetylated starch and inulin as encapsulating agents of Gallic acid and their release behaviour in a hydrophilic system", Food Chemistry, 134(2012)1-8.

[246]López-Molina, D., Chazarra, S., How, C.W., Pruidze, N., Perán, E.N., Cánovas, F.G., García-Ruiz, P.A., Melgarejo, F.R., Rodríguez-López, J.N., "Cinnamate of inulin as a vehicle for delivery of colonic drugs", International journal of pharmaceutics, 479(2015) 96-102.

[247]Hartzell, A.L., Maldonado-Gómez, M.X., Yang, J., Hutkins, R.W., Rose, D.J., "In vitro digestion and fermentation of 5-formyl-aminosailcylate-inulin: A potential prodrug of 5-aminosalicylic acid", Bioactive Carbohydrates and Diatary Fibre, 2(2013)8-14.

[248]Mandracchia, D., Tripodo, G., Latrofa, A., Dorati, R., "Amphiphilic inulin-D-α-tocopherol succinate (INVITE) bioconjugates for biomedical applications", Carbohydrate Polymers, 103(2014) 46-54.

[249]Pitarresi, G., Tripodo, G., Cavallaro, G., Palumbo, F.S., Giammona, G., "Inulin-iron complexes: A potential treatement of iron deficiency anaemia", European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 68(2008) 267-276.

[250]Rahul, R., Jha, U., Sen, G., Mishra, S., "A novel polymeric flocculant based on polyacrylamide grafted inulin: aqueous microwave assisted synthesis", Carbohydrate Polymers, 99(2014) 11-21.

[251]Rahul, R., Jha, U., Sen, G., Mishra, S., "Carboxymethyl inulin: A novel flocculant for wastewater treatment", International Journal of Biological Macromolecules, 63(2014) 1-7.

[252]Lattanzio, V., Kroon, P.A., Linsalata, V., Cardinali, A., "Globe artichoke: A functional food and source of nutraceutical ingredients", journal of functional foods, 1 (2009) 131-144.

[253]Lombardo, S., Restuccia, C., Pandino, G., Licciardello, F., Muratore, G., Mauromicale, G., "Influence of an O3- atmosphere storage on microbial growth and antioxidant contents of globe artichoke as affected by genotype and harvest time", Innovative Food Science and Emerging Technologies, 27(2015) 121-128.

[254] Bradai, L., Neffar, S., Amrani, K., Bissati, S., Chenchouni, H., "Ethnomycological survey of traditional usage and indigenous knowledge on desert truffles among the native Sahara Desert people of Algeria", Journal of Ethnopharmacology, (2015), http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2014.12.031

[255] Bradai, L., Bissati, S., Chenchouni, H., "Desert truffles of the North Algerian Sahara: Diversity and bioecology", Emirates Journal of Food and Agriculture, 26(2014) 425-435.

[256]Kang, K.S., Pettit, D.J., "Xanthan, gellan, wellan, and rhamnan.In Industrial Gum: Polysaccharides and their derivatives", 3rd edition. Whistler R.L. and Bemiller J.N. Eds.,(1993), pp341-397.

[257]Garcia -Ochoa, F., Santos, V.E., Casas, J.A., Gomez, E., Xanthan gum: production, recovery, and properties, Biotechnology Advances, 18 (2000) 549-579.

[258] Official Methods of Analysis of the AOAC, The Association of Official Analytical Chemist, Kenneth Helrich, 15th edition, Virginia, USA.

[259] Lingyun, W.,Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin,Y., Chenggang, C., Tianhua, F., Fan, Z., "Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers", Journal of Food Engineering, 79 (2007)1087–1093.

[260]Saengkanuk, A., Nuchadomrong, S., Jogloy, S., Patanothai, A., Srijaranai, S., "A simplified spectrophotometric method for the determination of inulin in Jerusalem artichoke (Helianthus tuberosus L.)tubers", European Food Research and Technology, 233 (2011) 609–616.

[261]Park, K.J., de Oliveira, R.A., Brod, F.P.R., "Draying operational parameters influence on chicory roots draying and inulin extraction", Food and Bioproducts Processing, 85 (2007) 184–192.

[262]Meuser, F., Bauer, I., Hellwege, E., Pilling, J., *"Inulin of very high chain length"*, Brevets, publication number WO2007128560 A2, 2007. https://www.google.com/patents/CA2649656C?cl=en

[263]Berghofer, E., Cramer, A., Schmidt, U., Veigl, M., "Pilot-scale production of inulin from chicory roots and its use in foodstuffs, In Inulin and inulin-containing crops", Studies in Plant Science,3 (1993) 77–84.

[264]Ku, Y., Jansen, O., Oles, C.J., Lazar, E.Z., Rader, J.I., "Precipitation of inulins and oligoglucoses by ethanol and other solvents", Food Chemistry, 81 (2003) 125-132.

[265]Lefnaoui, S., Moulai-Mostefa, N., " Investigation and optimization of formulation factors of a hydrogel network based on kappa carrageenan – pregelatinized starch blend using an experimental design", Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 458(2014)117-125.

[266]Lazic´, Ž.R., "Design of Experiments in Chemical Engineering, A Practical Guide", WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, (2004), pp 157-443.

[267]Myers, R.H., Montgomery, D.C., "Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments", 2nd edition, John Wiley and Sons, New York, (2002).

[268]Wang, Q., Liu, Y., Cui, J., Du, J., Chen, G., Liu, H., "Optimization of ultrasonic-assisted extraction for herbicidal activity of chicory root extracts", Industrial Crops and Products, 34 (2011) 1429-1438.

[269]Wolff, D., Czapla, S., Heyer, A.G., Radosta, S., Mischnick, P., Springer, J., "Globular shape of high molar mass inulin revealed by static light scattering and viscometry", Polymer, 41 (2000) 8009-8016.

[270]US Pharmacopia, "US Pharmacopeia National Formulary U.S.P.XXIV", NFXIX. Rockville, MD. United states Pharmacopeial Convention Inc., 2000.

[271]Hedge, J.E, Hofreiter, B.T., "Carbohydrate Chemistry 17", Academic press New York, Edition Whistler R L and Be Miller, (1962).

[272]Kitamura, S., Hirano, T., Takeo, K., Mimura, M., Kajiwara, K., Stokke, B.T., Harada, T., "Conformation of (2→1)-beta-D fructan in aqueous solution", International Journal of Biological Macromolecules, 16 (1994) 313-317.

[273]Sadasivam S., Manickam A., "Carbohydrates In biochemical methods", New Age International (P) Ltd, Publishers, 2nd edition, (2005), pp15-16.

[274]Tao, Y., Zhang, R., Xu, W., Bai, Z., Zhou, Y., Zhao, S., Xu, Y., Yu, D., "Rheological behavior and microstructure of release-controlled hydrogels based on xanthan gum crosslinked with sodium trimetaphosphate", Food Hydrocolloids, 52 (2016) 923-933.

[275]Bueno, V.B., Bentini, R., Catalani, L.H., Petri, D.F.S., "Synthesis and swelling behavior of xanthan-based hydrogels", Carbohydrate Polymers, 92 (2013) 1091-1099.

[276]Efentakis, M., Koutlis, A.," Release of Furosemide from Multiple-Unit and Single-Unit Preparations Containing Different Viscosity Grades of Sodium Alginate", Pharmaceutical Development and Technology, 6 (2001) 91–98.

[277]Restuccia, C., Lombardo, S., Pandino, G., Licciardello, F., Muratore, G., Mauromicale, G., "An innovative combined water ozonisation/O3-atmosphere storage for preserving the overall quality of two globe artichoke cultivars", Innovative Food Science and Emerging Technologies, 21 (2014) 82–89.

[278] Masoud, M.I., Amin, W.A., Elgindy, A.A., "Chemical and technological studies on Chicory (Cichorium Intybus L) and its applications in some functional food", Advanced Journal of Agricultural Research, 14 (2009) 739-754.

[279]Hamza, A., Zouari, N., Zouari, S., Jdir, H., Zaidi, S., Gtari, M., Neffati, M.,"Nutraceutical potential, antioxidant and antibacterial activities of Terfezia boudieri Chatin, a wild edible desert truffle from Tunisia arid zone", Arabian Journal of Chemistry, 9 (2016) 383–389.

[280]Goupy, J., Creighton, L., "Synthèse et Conseils In Introduction Aux Plans d'Expériences", Dunod Edition,(2006), pp 272-280.

[281] Lefnaoui, S. "Formulation de système bioadhésifs à base de polymères, Etude des propriétés physicochimique et biopharmaceutiques", thèse de doctorat, département de chimie industrielle, université de Blida, 2014.

[282]Wei, L., Wang, J., Zheng, X., Teng, D., Yang, Y., Cai, C., Feng, T. & Zhang, F., "Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers", Journal of Food Engineering, 79 (2007) 1087-1093.

[283]Ocilka, M., Kováč, D., "Simulation model on induction heating in comsol multiphysics", Acta Electronica et Informatica, 15 (2015) 29–33.

[284] Rivera, L., Vilarem, G., "Hydrodistilltion of caraway by direct induction heating assisted by magnetique field process", Flavour and Fragrance Journal, 22 (2006) 178-183.

[285]Zouambia, Y., Youcef-Ettoumi, K., Krea, M., Moulai-Mostefa, N., "A new approach for pectin extraction: electromagnetic induction heating". Arabian Journal of Chemistry, (2014), http://doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.011

[286] Gupta, A.K., Kaur, N., Kaur, N., "Preparation of inulin from chicory roots", Journal of Scientific and Industrial Research, 62(2003) 916-920.

[287]Bemiller, J.N., "Isolation and hydrolysis of alkali-stable inulin", Carbohydrate Research, 21 (1972) 154-155.

[288] Loo, V., Hermans, J., "Inulin products with improved nutritional properties", European Patent Application, (2000) EP1125507A1.

[289]Hu, Y., Zhang, J., Yu, C., Li, Q., Dong, F., Wang, G., Guo, Z., "Synthesis, characterization, and antioxydant properties of novel inulin derivatives with amino-pyridine group", International Journal of Biological Macromolecules, 70 (2014) 349-361.

[290] Yang, L., Zhang, L.M., "Review Chemical structural and chain conformational characterization of some bioactive polysaccharides isolated from natural sources", Carbohydrates, 76 (2009) 349-361.

[291]Jones, A.G., "Crystallization process systems", Butterworth-Heinemann, an imprint of Elsevier Science, 1st edition,(2002), pp 61-66.

[292]Marchessault, R.H., Bleha, T., Deslandes, Y., Revol, J.F., "Conformation and crystalline structure of (2→1)-β-D-fructofuranan (inulin)", Revue Canadienne de Chimie, 58 (1980) 2415-2422.

[293] Pekić, B., Slavica, B., Lepojević, Ž., "Effect of pH on the acid hydrolysis of Jerusalem artichoke inulin", Food Chemistry, 17 (1985) 169-173.

[294]Bonting, L.S., "Differential determination of glucose and fructose in microgram quantities", Archives of Biochemistry and Biophysics, 52 (1954) 272-279.

[295]Delanaye, P., Souvignet, M., Dubourg, L., Thibaudin, L., Maillard, N., Krzesinski, J-M., Cavalier, E., Mariat, C., "Le dosage de l'inuline: mise au point", Annales de Biologie Clinique, 63 (2011) 273-284.

[296] Vendrell-Pascuas, S., Castellote-Bargalló, A.I., López-Sabater, M.C., "Determination of inulin in meat products by high-performance liquid chromatography with refractive index detection", Journal of Chromatography A, 881 (2000) 591-597.

[297] Lagunez, R., "Etude de l'extraction de metabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffé par induction thermomagnétique directe", Thèse Doctorat, istitut national polytechnique de Toulouse, (2006).

[298]Xiong, X., Li, M., Xie, J., Xue, B., Sun, T., Preparation and antioxydant activity of xanthan oligosaccharides derivatives with similar substituting degrees, Food Chemistry, 2014. http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.001.

[299]Verraest, D.L., "Modification of Inulin for non-food Applications", Dissertation, (1997) 101-102.

[300]Paixão, N., Perestrelo, R., Marques, J.C., Câmara, J.S., Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines, Food Chemistry, 105 (2007) 204–214.

[301] Xiong, X., Li, M., Xie, J., Jin, Q., Xue, B., Sun, T., Antioxydant activity of xanthan oligosaccharides prepared by different degradation methods, Carbohydrate Polymers, 92 (2013) 1166-1171.

Annexes

Tableau A1.1. Fiche de spécification de xanthane sodique

Propriété	**Spécification**
Apparence	Poudre fine
Couleur	Blanc crémeux
Tauxd'humidité (%)	7-13
Viscosité (mPa.s) à 24°C, 1% dans 1% KCl	1400-1700
pH (1% de solution aqueuse)	6.0-8.0
Cendre	6.5-16
Densitéapparente ($g.cm^{-3}$)	0.7-0.8
MétauxlourdcommePb (ppm)	10 max
2-propanol (ppm)	<750
Solubilité	- Soluble dansl'eau - Compatible avec les surfactants non ionique, anionique et amphotère

Préparation du réactif de Résorcinol

Le Réactif de Résorcinol est préparé par dissolution de 1g de résorcinol et 0.25g thiouréa dans 100ml d'acide acétique glacial. Cette solution est stable dans le noir.

La solution de HCl diluée et obtenue en mélangeant 5 volumes de solution HCl concentrée avec un volume d'eau distillée.

Préparation de la solution d'Anthrone

Faire dissoudre 200mg de réactif d'Anthrone dans 100ml d'acide sulfurique glacial 95% (la solution doit être préparée juste avant l'utilisation).

Tableau A2.1 : Nombre des articles publiés entre 2000 et 2013 pour chaque polymère.

Année	2000-2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013	Σ
Cellulose										
Extraction	27	11	10	12	16	5	28	13	16	138
MAP	155	65	70	77	61	118	105	34	84	769
MAE	32	30	20	34	21	23	26	8	9	203
AA	9	12	14	8	9	9	4	5	2	72
Σ	223	118	114	131	107	155	163	60	111	1182
Amidon										
Extraction	30	26	36	20	27	30	27	8	15	219
MAP	195	122	97	99	104	148	106	54	118	1043
MAE	16	12	7	4	7	5	7	3	1	62
AA	5	11	1	3	2	4	0	1	5	32
Σ	246	171	141	126	140	187	140	66	139	1356
Alginate										
EII	6	3	4	1	5	4	3	1	5	32
MAP	200	117	114	118	83	101	83	54	93	963
MAE	27	17	12	19	13	11	10	7	18	134
AA	4	3	1	0	1	2	3	2	3	19
Σ	237	140	131	138	102	118	99	64	119	1148

Chitosane										
EII	15	8	7	11	7	2	12	12	7	81
MAP	220	124	175	187	172	95	139	176	155	1443
MAE	45	34	41	54	42	22	34	22	24	318
AA	10	8	16	14	8	2	4	4	9	75
Σ	290	174	239	266	229	121	189	214	195	1917
Xanthane										
EII	9	4	7	7	4	5	2	0	3	41
MAP	70	26	41	56	64	10	19	18	26	330
MAE	5	1	0	3	1	0	0	2	2	14
AA	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Σ	84	31	48	66	69	15	21	20	31	385
Pectine										
EII	16	6	13	33	19	14	16	18	10	145
MAP	40	13	51	56	60	43	42	43	30	378
MAE	9	0	4	5	5	4	0	1	1	29
AA	1	0	2	1	0	0	0	0	3	7
Σ	66	19	70	95	84	61	58	62	44	559
Dextrane										
EII	5	2	0	3	5	0	3	6	3	27
MAP	50	62	67	55	53	42	45	48	35	457
MAE	5	2	3	0	0	0	0	1	0	11

AA	1	1	5	0	1	0	0	0	1	9
Σ	61	67	75	58	59	42	48	55	39	504
Carraghénan										
EII	3	4	3	6	3	6	5	4	4	38
MAP	30	71	51	52	49	25	35	37	32	382
MAE	9	0	1	2	1	0	0	0	0	13
AA	2	2	0	0	0	0	0	0	0	4
Σ	44	77	55	60	53	31	40	41	36	437
Pullulan										
EII	7	7	2	9	5	6	6	8	6	58
MAP	28	24	20	30	25	14	22	20	31	231
MAE	11	0	1	1	1	0	1	0	0	15
AA	1	2	0	0	3	0	0	0	0	6
Σ	66	33	23	40	34	20	29	28	37	310
Inuline										
EII	5	6	8	5	8	5	5	4	0	46
MAP	12	28	49	39	43	13	15	22	20	241
MAE	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AA	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1
Σ	17	34	58	44	51	18	20	26	20	288

EII : Extraction/Isolation et Identification

MAP : Modification/Applications Pharmaceutiques, cosmétique et agroalimentaire

MAE : Modification/Application environnementale AA : Autres Applications