République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE YAHIA FARES de Médéa

Faculté de Technologie

Département de Génie des Procédés et Environnement



MEMOIRE DE MASTER

En vue d'obtention du diplôme de master en génie des procédés pharmaceutiques

Thème

Formulation d'une émulsion gélifiée à base de l'huile végétale de nigelle

Proposé et dirigé par:

Dr. TERKMANE Naila

Présentées par:

Yagoub Saida

Khaouane Sarah

Soutenue le 17 /06/2023, devant le jury composé de :

Dr. Benkiar Amina	MCB, Université de Médéa	Président de jury
Dr. Youcef ettoumi khadidja	MCA, Université de Médéa	Examinatrice
Dr. Terkmane Naila	MCB, Université de Médéa	Promotrice

2022-2023

Remerciement

Nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant de nous avoir donné la santé, le courage et la volonté pour accomplir ce modeste travail.

Nous tiendrons à remercier nos chers parents qui ont fait tous leur possible pour qu'on puisse être ici aujourd'hui. Nos plus vifs remerciements et appréciation s'adressent à notre promotrice ***"TERKMANE Naila"****, pour son aide, ses orientations et ses conseils.*

Nos remerciements vont particulièrement au président et membres de jury qui nous font l'honneur de juger ce travail

Nous adressons nos remerciements aux ingénieurs des laboratoires du pôle Universitaire d'Ouzera, Université de Médéa, notamment Aicha et Lamia, qui ont met à notre disposition tous le matériel nécessaire à la réalisation de la partie pratique de notre mémoire.

A tous les enseignants de la faculté de technologie et surtout les enseignants de la filière de Génie des Procédés Pharmaceutiques.

Enfin, nous remercions sincèrement nos familles et proches, qui ont toujours été présent aux moments difficiles surtout au cours de la réalisation de ce mémoire.

Dédicace

Je remercie tout d'abord mon ALLAH le tout puissant qui m'a donné la volonté, la force et le courage pour réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

À mes chers parents ma mère et mon père

Pour leur patience, leur amour, leur soutien et leurs encouragements. vraiment aucun dédicace ne saurait exprimer a force de mes sentiments et la reconnaissance que je leur porte.

À mes frères : Ilyes, Moussa

À ma chère sœur : Nabila.

Ainsi mon binôme Sarah

À tous mes amies notamment : Meriem, Aya, Ahlem, Khaoula, Rima , Djamila , Rihab

Sans oublier tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

À tous les membres de ma famille, grande et petite.

A toute la promotion génie des procédés pharmaceutiques 2023

Yagoub Saida

Dédicace

*Je tiens tout d'abord à remercie **ALLAH** qui m'a aidé et m'a donné la patience et le courage durant ces longues années d'étude.*

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études, Pour leur amour, leur soutien et leurs encouragements.

À ceux qui m'ont motivé à réussir mes chères tantes : KARIMA, AKILA, SAMIA, la plus tendre ma grand-mère WASSILA, à mon grand-père et mon oncle.

À mes sœurs et mes frères : AMINA, OUAHIBA, YASMINE, HADJER, MALIKA, ANFEL, MOUHAMAD, YOUCEF.

À Ma belle nièce AMIRA.

À mon institutrice LATIFA, source de gentillesse.

Et à mon binôme : SAIDA.

Enfin, je remercie également tous ceux qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont soutenus ou aidés durant la réalisation de ce travail.



Khaouane Sarah

ملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تشكيل مستحلب هلامي يعتمد على الإينولين كبوليمر هلامي ، تم إجراء تحسين للصيغة باستخدام تصميم تجريبي Box-benhken الذي يأخذ بعين الاعتبار ثلاثة عوامل: كمية الزيت النباتي لحبة البركة، كمية من tween 80 وكمية الإينولين المستخدمة. في الخطوة الأولى ، تم تمييز الزيت النباتي لنبات الحبة السوداء التي تم الحصول عليها بالضغط البارد بقياس معامل الانكسار ، والكثافة ، ومؤشر الحموضة، ومؤشر التصبن ، ومؤشر الإستر. القيم التي تم العثور عليها هي: 1.4726؛ 0.919 غ / سم^3؛ 18267 و 193.545 و 175.278 مغ منKOH/ غ زيت نباتي (HV)على التوالي. يتكون المستحلب الهلامي الأمثل الذي تم الحصول عليه من 7.5% من الزيت النباتي لحبة البركة ، و 1% من tween 80 و 17.5 % من الإنولين ، ومؤشر الكريمات الخاص به هو صفر وناقليته 3.41 مس/سم . أثبت هذا المستحلب استقراره لمدة 30 يومًا من التخزين في درجة حرارة الغرفة ودرجة حرارة 4°م .

الكلمات المفتاحية: مستحلب ، إينولين ، زيت حبة البركة ، خافض للتوتر السطحي ، تركيبة ، ثبات ، خطة تجريبية

Résumé

L'objectif de cette étude est de formuler une émulsion gélifiée à base d'inuline comme polymère gélifiant, une optimisation de la formulation a été réalisée en utilisant un plan d'expérience Box-benhken qui tient en considération trois facteurs : la quantité de l'huile végétale de nigelle (HV), la quantité de Tween 80 et la quantité d'inuline utilisée. En première étape, l'huile végétale de nigelle cultivée obtenue par pression à froid a été caractérisée en mesurant l'indice de réfraction, la densité, l'indice d'acide, l'indice de saponification et l'indice d'ester. Les valeurs trouvées sont : 1,4726 ; 0,919 g/cm^3 ; 18267, 193,545 et 175,278 mg KOH/g huile végétale (HV), respectivement. L'émulsion gélifiée optimale obtenue est constituée de 7.5% de l'huile végétale de nigelle, 1% de Tween 80 et 17.5% d'inuline, son indice de crémage est de zéro et sa conductivité est de 3.41mS/cm. Cette émulsion a prouvé une stabilité pendant 30 jours de stockage à la température ambiante et à la température 4°C.

Mots clés : Emulsion, inuline, huile de nigelle, tensioactif, formulation, stabilité, plan expérience.

Abstract

The objective of this study is to formulate a emulsion filled gel based on inulin as a gelling polymer, an optimization of the formulation was carried out using a Box-benhken experiment design which takes into consideration three factors: the quantity of the black seed vegetable oil, the quantity of Tween 80 and the quantity of inulin used. In the first step, the vegetable oil of cultivated nigella obtained by cold pressing was characterized by measuring the refractive index, the density, the acid index, the saponification index and the ester index. The values found are: 1.4726; 0.919g/cm^3; 18267, 193.545 and 175.278 mg KOH/g HV respectively. The optimal emulsion filled gel obtained consists of 7.5 % of vegetable oil of nigella, 1 % of Tween 80 and 17.5% of inulin, its creaming index is zero and its conductivity is 3.41 mS/cm. This emulsion has proven stability for 30 days of storage at room temperature and at 4°C.

Keywords: Emulsion, inulin, black seed oil, surfactant, formulation, stability, experiment design.

Sommaire

Remerciement

Dédicace

Résumés (arabe, français, anglais)

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations

Introduction générale ……..... 1

Chapitre I : Généralités sur les émulsions

I.1. Introduction……... 3

I.2. Définition…….. 3

I.3. Composition des émulsions……... 4

I.3.1. Phase lipophile et phase hydrophile……... 4

I.3.2. Emulsifiants…… 4

I.4. Classification des émulsions……. 5

I.4.1. Selon la taille…… 5

I.4.1.1. Macroémulsions ou émulsions…… 5

I.4.1.2. Microémulsions…….. 5

I.4.1.3. Nano/mini émulsions…… 5

I.4.2. Selon la composition…….. 7

I.4.2.1. Émulsion simple…….. 7

I.4.2.2. Émulsion doubles…… 8

I.5. Caractéristiques d'une émulsion……... 9

I.6. Généralités sur les tensioactifs……. 9

I.6.1. Définition d'un tensioactif…… 9

I.6.2. Classification des tensioactifs…… 10

I.7. Formation d'émulsion…… 13

I.8. Stabilité des émulsions…….. 14

I.9. Domaines d'application des émulsions……. 16

I.10. Conclusion……... 17

Chapitre II : Huile de nigelle

II.1. Introduction…… 18
II.2. Étymologie……... 18
II.3. Différentes espèces du genre Nigella L……... 19
II.4. Nigella sativa L…… 21
II.4.1. Culture …….. 21
II.4.2. Description botanique de Nigella sativa L…… 21
II.5. Composition chimique et phytocomposés……... 23
II.5.1. Alcaloïdes……. 25
II.5.2. Acides gras…… 26
II.5.3. Polyphénols……... 27
II.5.4. Phytostérols…….. 29
II.5.5. Terpènes et terpénoïdes…… 29
II.5.6. Autres…… 29
II.6. Utilisation……. 30
II.6.1. Usages traditionnels et thérapeutiques…….. 30
II.6.2. Usages comme épice……. 31
II.7. Principales propriétés thérapeutiques…….. 32
II.7.1. Activité antioxydante…… 32
II.7.2. Activité antimicrobienne……... 33
II.7.3. Action anti-inflammatoire……. 33
II.8. Toxicité…… 33
II.9. Conclusion …….. 34

Chapitre III : Plan d'expérience

III.1. Introduction…… 35
III.2. Historique……... 35
III.3. Principes généraux de construction des plans d'expériences……. 36
III.4. Terminologie…….. 37
III.4.1. Différents types de facteurs……. 37

III.4.2. Espace expérimental…… 38
III.4.3. Domaine d'un facteur…….. 39
III.4.4. Domaine d'étude……. 39
III.5. Plans pour surfaces de réponse……... 41
III.5.1. Plan de Box-Behnken…….. 41
III.5.2. Plans composites……..... 42
III.5.3. Plan de Doehlert…….. 43
III.6. Conclusion…….. 45

Chapitre IV : Matériel et Méthodes

IV.1. Objectif du travail …….. 46
IV.2. Matériel et produits utilisées ……. 46
IV.3. Préparation des gels d'inuline ……..... 47
IV.3.1. Caractérisation de l'inuline ……. 49
IV.3.1.1. Détermination de taux d'humidité de l'inuline …….. 49
IV.3.1.2. Caractérisation par spectroscopie FTIR ……... ……. 50
IV.3.2. Formation d'un gel à base d'inuline…… 50
IV.4. Caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de Nigelle……. 54
IV.4.1. Caractérisation physique de l'HV……..... 54
IV.4.2. Caractérisation chimique de l'HV……..... 56
IV.4.3. Caractérisation physique de l'HV……..... 58
IV.5. Formulation d'une émulsion gélifiée à base de l'HV de nigelle ……..... 59
IV.5.1. Plan d'expérience Box Benhken …… 59
IV.5.2. Préparation des émulgels ……. 60
IV.5.3. Caractérisation des émulgels …….. 61
IV.5.4. Caractérisation de la formule optimale ……..…….. 62

Chapitre V : Résultats et discussion

V.1. Caractérisation de l'inuline ……. 64
V.1.1. Taux d'humidité …….. 64
V.1.2. Caractérisation par spectroscopie FTIR ……. 64
V.1.3. Formation et Caractérisation des gels à base d'inuline …… 65

V.2. Caractérisation de l'HV …….. 72
V.2.1. Caractérisation organoleptique de l'HV …….. 72
V.2.2. Caractérisation physico-chimique de l'HV ……. 72
V.2.3. Caractérisation par spectroscopie FTIR …….. 75
V.3. La formulation d'une émulsion gélifiée à base de l'huile de Nigelle…….. 76
V.3.1. Préparation des émulgels ……. 76
V.3.2. L'analyse statistique…….. 77
V.3.3. Caractérisation de la formule optimale …… 85
Conclusion générale…….…… 89
Références bibliographiques
Annexe

Liste des figures

Chapitre I

Figure I.1: Emulsion: phase dispersée et phase dispersante ……. 3

Figure I.2: Représentation d'une émulsion avec émulsifiant ……... 5

Figure I.3: Les deux types d'émulsions simples …….. 7

Figure I.4: Les deux types d'émulsions multiples……. 8

Figure I.5 : La schématisation classique des tensioactifs…….. 10

Figure I.6: Tensioactif anionique…….. 11

Figure I.7: Tensioactif cationique……. 11

Figure I.8 : Schéma général d'un rotor stator ……... 13

Figure I.9 : Déformation des gouttelettes au cours du processus d'émulsification... 14

Figure I.10: Différentes phases d'instabilités d'une émulsion ……. 14

Chapitre II

Figure II.1 : Quelques variétés du Nigelle : (a) *Nigella sativa*, (b) *N. damascena* 'Cambridge Blue', (c) *N. arvensis*, (d) : *N. orientalis*, (e) *Nigella hispanica*. …… 20

Figure II.2 : Plante *Nigella Sativa L* ……. 22

Figure II.3 : Feuilles de *Nigella sativa L.* ……. 22

Figure II.4 : Fleurs de *Nigella sativa L*……. 23

Figure II.5 : (a) Capsule et (b) graines de *Nigella sativa L*……... 23

Figure II.6 : Structures chimiques des alcaloïdes isolés à partir de N. Sativa …….. 26

Figure II.7 : Structures chimiques des acides gras isolés à partir de N. sativa ……. 27

Figure II.8 : Structures chimiques de Polyphénols ……... 28

Figure II.9 : Structures chimiques des Polyphénols (suite) …….. 28

Figure II.10 : Structures chimiques des Polystérols ……. 29

Figure II.11 : Structures chimiques de quelques terpènes……. 30

Figure II.12 : Panchphoron ……. 32

Chapitre III

Figure III.1 : Schéma représentant un espace expérimental (chaque facteur est représenté par un axe gradué et orienté. Les axes des facteurs sont orthogonaux

entre eux) ……... 38

Figure III.2 : Le domaine de variation d'un facteur est constitué de toutes les valeurs numériques comprises entre la valeur minimale et la valeur maximale. ….. 39

Figure III.3: Représentation d'un domaine d'étude (la réunion des domaines des différents facteurs) ……. 40

Figure III.4: Domaine d'étude sous contraintes (la partie grise) ……. 40

Figure III.5 : Plan de Box- Behnken pour trois facteurs……... 41

Figure III.6 : Plan composite pour deux facteurs…….. 43

Figure III.7 : Disposition des points expérimentaux d'un plan de Doehlert pour deux facteurs ……. 44

Figure III.8 : Nouveau plan de Doehlert qui peut être construit en utilisant quatre résultats du plan précédent …… 45

Chapitre IV

Figure IV.1 : Structure chimique de l'inuline (a) GFn, (b) Fn.n est le degré de polymérisation ou le nombre d'unités β-D fructofuranose …… 48

Figure IV.2: Solubilité maximale de l'inuline native et à longue chaîne en fonction de température. Données de Sensus …… 59

Figure IV.3 : Protocole 01 de préparation des gels de l'inuline ……... 51

Figure IV.4: protocole 02 de préparation des gels de l'inuline ……. 52

Figure IV.5: viscosimètre à tige…… 53

Figure IV.6: Microscope optique avec caméra …… 53

Figure IV.7: Centrifugeuse ……... 54

Figure IV.8: Pycnomètre ……. 55

Figure IV.9: Réfractomètre …….. 56

Figure IV.10: réfrigérant à reflux…….. 57

Figure IV.11: Conductimètre …… 61

Figure IV.12 : Photo d'une émulsion présentant une séparation de phase ……... 62

Chapitre V

Figure V.1: Spectre FTIR de l'inuline HPX…….. 65

Figure V.2: Suspensions d'inulines formées en utilisant le Protocole 1……... 66

Figure V.3: Gels d'inulines formées en utilisant le Protocole 02…….. 66

Figure V.4: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations de protocole 1…… 68
Figure V.5: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations de protocole 02…….. 68
Figure V.6: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de chaque Formulation…… 69
Figure V.7: Vues microscopes des formulations préparées par le protocole 01….. 70
Figure V.8: Vues microscopes des formulations préparées par le protocole 02….. 71
Figure V.9: HN après la centrifugation……. 72
Figure V.10: Détermination d'indice de réfraction……... 73
Figure V.11: Détermination d'indice d'acide (apparition de la coloration rose)… 74
Figure V.12: Détermination de l'indice de saponification…… 74
Figure V.13 : Spectre FTIR de l'huile végétale de nigelle cultivée…….. 75
Figure V.14: Tracé récapitulative des résultats……. 79
Figure V.15: Analyse de variance Anova pour l'indice de crémage……. 80
Figure V.16: Analyse de variance Anova pour la conductivité……. 81
Figure V.17 : Effets des facteurs sur les réponses……. 82
Figure V.18: Courbes de corrélation linéaire entre les valeurs prédites et ceux expérimentales…… 83
Figure V.19: Influence de l'huile de nigelle et le Tween 80 sur l'indice de crémage……... 84
Figure V.20: Influence de l'huile de nigelle et le Tween 80 sur la conductivité….. 84
Figure V.21: courbes de surface représentant l'influence des différents facteurs sur les réponses……... 85
Figure V.22: Emulsion gélifiée optimale après la centrifugation…….. 86
Figure V.23: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de Formulation optimale……. 87
Figure V.24 : Vue microscopique de la formule optimale d'émulgel (à un agrandissement X10)…….. 87
Figure V.25: Figure IV.10 : Formulation optimale après 1 mois. (a) : à température ambiante, (b) : à température (4°C) ……... 88

Liste des tableaux

Chapitre I

Tableau I.1 : Symboles descriptif des émulsions ……... 4

Tableau I.2 : *C*aractéristiques des différentes catégories d'émulsions …….. 6

Tableau I.3: Les deux types d'émulsions simples …….. 7

Tableau I.4 : Résumé des gammes HLB et leurs applications …….. 12

Tableau I.5 : Nombres HLB requis pour émulsifier diverses huiles 13

Tableau I.6 : Mécanismes d'émulsification observés dans les émulsions eau/huile et huile/eau (d'après d'autres publications) …….. 15

Chapitre II

Tableau II.1: Noms vernaculaire de Nigelle sativa……. 19

Tableau II.2: Différentes espèces du genre Nigella…… 20

Tableau II.3: Composition chimique de la nigelle cultivée (Nigelle sativa L.). …… 24

Chapitre III

Tableau III.1 : Matrice d'un plan de Box- Behnken pour 3 facteurs…….. 42

Tableau III.2 : Matrice d'un plan de Doehlert à deux facteurs …….. 44

Chapitre IV

Tableau IV.1: Matériel utilisés…… 46

Tableau IV.2: Produits chimique utilisés ……... 47

Tableau IV.3: Différentes masses d'inuline …… 51

Tableau IV.4: Variables de plan Box Benhken …….. 59

Tableau IV.5 : Matrice des expériences ……. 60

Chapitre V

Tableau V.1 : Propriétés organoleptiques d'huile végétale de la Nigelle cultivée….. 72

Tableau V.2 : Résultats de la caractérisation physico-chimique de l'HN……... 75

Tableau V.3 : Les différents constituants des émulgels formulées……. 77

Tableau V.4 : Résultats de formulation par Plan Box-Behnken…….. 78

Tableau V.5 : Tracé récapitulative des résultats…….. 79

Tableau V.6 : Résultats de l'ANOVA pour l'indice de crémage…… 80

Tableau V.7: Résultats de l'ANOVA pour la conductivité …..……. 81

Liste des abréviations et des symboles

Abréviations

AFNOR: Association française de normalisation

AGPI : Acides gras polyinsaturés.

DP: Degré de polymérisation

E/H : Emulsion eau dans huile.

E/H/E : Emulsion eau dans huile dans eau.

FTIR : Spectroscopie infrarouge à transformé de fourrier.

HCl : Acide chlorhydrique.

H/E : Emulsion huile dans l'eau.

H/E/H : Emulsion huile dans eau dans huile.

HLB : Hydrophile lipophile balance

H/L/H : Hydrophile/lipophile/hydrophile

HPX: Haut degré de polymérisation qui résiste aux traitements thermiques

HV : huile végétale.

KOH : Hydroxyde de potassium.

KBr : Bromure de potassium.

L/H/L : Lipophile/hydrophile/lipophile

MCMV : Cytomégalovirus murin.

M : Molarité (mol/L).

N. sativa : Nigella sativa.

O/W: Emulsion oïl in water.

pH : potentiel hydrogène.

T : Température (°C).

TA : Tensioactif

TQ : le thymoquinone.

T.p.m: Tours par minutes

W/O : Emulsion water in oïl.

X_1, X_2, X_3 : Facteurs du plan d'expérience Box-benhken

Y_1, Y_2 : réponses du plan d'expérience Box-benhken

Symboles

d_{20} : Densité relative.

I_A : Indice d'acide (mg KOH/g HV).

I_c: Indice de crémage.

I_E : Indice d'ester (mg KOH/g HV).

I_S : Indice de saponification (mg KOH/g HV).

n_D^{20} : Indice de réfraction.

T_H: Taux humidité (%).


Introduction
Générale

Introduction générale

Les émulsions sont omniprésentes dans l'industrie alimentaire (mayonnaise, vinaigrette, crème glacée, ….), pharmaceutique (vectorisation de principes actifs), cosmétique, chimique, ou encore dans le domaine paramédical. Elles permettent d'obtenir des textures et des propriétés particulières dans un produit. Les émulsions sont des systèmes formés par la dispersion de fines gouttelettes d'un liquide dans un autre, elles contiennent ainsi une phase dispersée et une phase continue.

Les émulsions sont des systèmes dispersés métastables constitués d'au moins deux liquides non miscibles et d'un agent amphiphile. L'un des liquides est dispersé dans le second sous forme de petites gouttes sphériques dont la taille varie selon les conditions de 0,1 à quelques dizaines de micromètres. Le système ainsi créé ne correspond pas à un état thermodynamiquement stable, l'état le plus stable consisterait en la séparation macroscopique des deux fluides. **[1]**

Lorsqu'un polymère gélifiant ou un polysaccharide est incorporés dans l'une des phases de l'émulsion, ils participent ainsi à l'augmentation de sa viscosité et favorisant ainsi sa stabilité, on parle alors d'émulsion gélifiée ou émulgel. Les émulgels, sont des véhicules utilisés dans les formes topiques et percutanées pour l'administration des principes actifs médicamenteux, l'emploi de cette forme dispersée offre le double avantage des émulsions et des gels. **[2]**

L'objectif de ce travail consiste à la formulation d'une émulsion gélifiée stable à base d'un polymère 'Inuline'. Une optimisation de la formulation est réalisée en utilisant un plan d'expérience box-benhken basé sur la variation de trois facteurs à savoir ; la quantité de polymère, la quantité de l'huile végétale et la quantité de Tensioactif utilisé.

Ce mémoire est subdivisé en deux parties principales, une partie théorique comportant trois chapitres. Le premier chapitre est consacré à l'étude de quelques concepts généraux relatifs à la physico-chimie des émulsions. Les applications des systèmes dispersés dans les différents domaines industriels et spécialement pharmaceutiques et cosmétiques sont également présentées. Le deuxième chapitre donne des informations sur l'huile végétale de nigelle, notamment la composition chimique, l'utilisation et les

principales propriétés thérapeutiques. Dans le dernier chapitre, nous présentant les plans d’expériences : historique, terminologie et les plans de surface de réponse.

La deuxième partie qui sera consacré à l'aspect pratique de ce travail regroupe deux chapitres : un chapitre résume les méthodes et les protocoles utilisés dans cette étude et un chapitre présente les résultats trouvés ainsi que leurs interprétations. Le mémoire terminera par une conclusion générale.



Chapitre I : Généralités sur les émulsions

I.1. Introduction

Une émulsion est un système hétérogène, constitué d'au moins un liquide non miscible intimement dispersé dans un autre sous forme de gouttelettes dont le diamètre est, en général, supérieur à 0,1 micromètres. De tels systèmes possèdent une stabilité minimale, qui peut être accentuée par des additifs tels que des agents tensioactifs, solides finement divisés, etc. **[3]**

Les émulsions se trouvent dans différentes industries telles que l'industrie pharmaceutique, cosmétique, agroalimentaire, les peintures, l'agrochimie et l'industrie pétrolière. Dans l'industrie pharmaceutique, les applications sont diverses: émulsions parentérales, topiques, orales ou ophtalmiques. Du fait de ce large éventail d'utilisations, de nombreuses études sont en cours pour tester de mieux comprendre le comportement des émulsions. **[4]**

I.2. Définition

On appelle émulsions des systèmes formés par la dispersion de fines gouttelettes d'un liquide dans un autre. Les deux liquides sont supposés être des phases à l'équilibre thermodynamique, par exemple une solution aqueuse et une solution huileuse. On appelle : phase dispersée le liquide qui forme les gouttes et phase continue celui qui les disperse. **[5]**

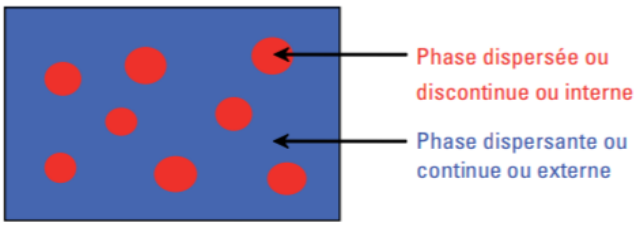


Figure I.1: Emulsion: phase dispersée et phase dispersante. **[6]**

Une émulsion possède une apparence macroscopique homogène tandis que sa microstructure est hétérogène.

Cette répartition des deux liquides s'explique par la présence d'une énergie de surface à l'interface appelée tension interfaciale. Lorsque cette force est faible, moins d'énergie est nécessaire pour augmenter la surface des gouttelettes. L'émulsion devient stable car on favorise la séparation des phases. **[7]**

I.3. Composition des émulsions

I.3.1. Phase lipophile et phase hydrophile

❖ La phase lipophile appelée également phase huileuse, phase organique ou phase grasse, elle peut contenir des huiles, des cires et des graisses d'origine végétale, animale ou minérale. Des substances synthétiques dérivées ou non de substances naturelles sont également utilisées. La phase lipophile d'une émulsion est généralement constituée d'un mélange d'ingrédients.

❖ La phase hydrophile, ou phase aqueuse, contient de l'eau et différents composants hydrosolubles; les solutés de la phase hydrophile sont de nature différente: ions minéraux, acides, bases, vitamines, glucides, protéines, etc. Les substances peuvent être ajoutées à l'une ou l'autre phase pour conférer aux produits différents propriétés (augmentation de la durée de conservation, modification du gout, de la texture, de l'apparence, rétention de l'humidité, etc.). Les additifs utilisés sont très divers. Il se répartit entre phase aqueuse et phase grasse selon leur solubilité. Leur utilisation est soumise à une réglementation qui dépend du secteur industriel concerné. **[6]**

Tableau I.1 : Symboles descriptif des émulsions **[6]**

Phase lipophile		Phase hydrophile	
Symbole	Signification	Symbole	Signification
L	Lipophile	H	Hydrophile
H	Huile	E	Eau
O	Oil	W	Water

I.3.2. Emulsifiants

Les émulsions sont une classe de systèmes dispersés constitués de deux liquides non miscibles. Les gouttelettes liquides (la phase dispersée) sont dispersées dans un milieu liquide (la phase continue). Plusieurs classes peuvent être distinguées : huile dans l'eau (O/W), l'eau dans l'huile (E/H). Pour disperser deux liquides non miscibles, il faut un troisième composant, à savoir l'émulsifiant. Le choix de l'émulsifiant est crucial pour la formation de l'émulsion et sa stabilité à long terme. **[8]**

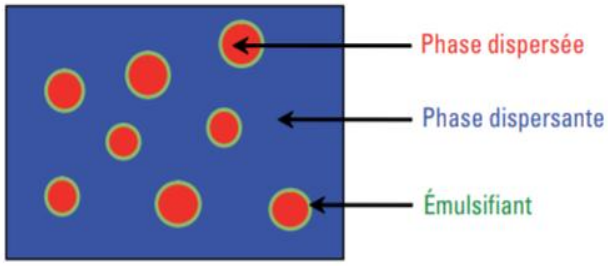


Figure I.2: Représentation d'une émulsion avec émulsifiant **[6]**

I.4. Classification des émulsions

I.4.1. Selon la taille

I.4.1.1. Macroémulsions ou émulsions

Il s'agit des systèmes dispersés hors équilibre comprenant deux phases liquides non miscibles. Les émulsions sont des systèmes thermodynamiquement instables, dans lesquels la séparation des deux phases conduit à une diminution de l'énergie libre. Cependant, la cinétique de grossissement de gouttes peut être suffisamment retardée pour que l'émulsion reste stable pendant une durée déterminée. Le diamètre moyen de ces émulsions classiques est supérieur ou égal au micromètre. Du fait de leur taille, et en fonction de la viscosité de la phase continue, les gouttes des émulsions sédimentent (ou crémage) sous l'effet de la gravité. **[9]**

I.4.1.2. Microémulsions

Les microémulsions sont une classe spéciale de « dispersions » (transparentes ou translucides qui ont en fait peu de choses en commun avec les émulsions. Ils sont mieux décrits comme ‘‘Micelles gonflées’’. ces derniers, thermodynamiquement stables, peuvent être constitués d'unités sphériques avec un rayon généralement inférieur à 5 nm. **[8]**

I.4.1.3. Nano/mini émulsions

Les nanoémulsions sont un type d'émulsions dont la taille des gouttelettes est uniforme et extrêmement petite (généralement entre 50 et 200 nm) ou « laiteuse » (jusqu'à 500 nm). Contrairement aux microémulsions, qui sont thermodynamiquement stables, les nanoémulsions ne sont stables que cinétiquement. Cependant, la persistance à long terme des nanoémulsions (sans floculation ou coalescence apparente) les rend uniques, et elles sont parfois qualifiées de « s'approchant de la stabilité thermodynamique ». Les

nanoémulsions peuvent être diluées sans modifier la distribution de la taille des gouttelettes. **[10]**

Tableau I.2 : Caractéristiques des différentes catégories d'émulsions. **[7]**

Propriétés	Macro-émulsion	Nano-émulsion	Microémulsion
Apparence	Opaque	Transparent ou légèrement turbide	Transparent ou légèrement turbide
Stabilité	Thermodynamiquement stable	Thermodynamiquement instable mais cinétiquement stable	Thermodynamiquement stable
Durée de vie	Courte	Courte	Longue
Taille gouttelettes	Supérieur à 1µm	Entre 20 et 500 nm	Entre 10 et 100 nm
Energie nécessaire à la formation	Méthode à forte ou faible énergie	Méthode à forte ou faible énergie	Méthode à faible énergie (formation spontanée
Coût pour la formation	Peu important	Important	Peu important
Pourcentage de tensioactif	Inférieur à 5 %.	Entre 5 et 10%	Supérieur à 10 %

I.4.2. Selon la composition

Les émulsions peuvent être classées en deux grands groupes : les émulsions simples et les émulsions multiples.

I.4.2.1. Émulsion simple

Les gouttelettes d'une phase liquide sont dispersées dans une autre phase liquide non miscible. Les émulsions simples peuvent être de deux types :

- Les émulsions eau dans l'huile (appelées E/H, émulsion inverse)
- les émulsions huile dans l'eau (appelées H/E, émulsion directe). **[11]**

Tableau I.3: Les deux types d'émulsions simples **[6]**

Sens de l'émulsion	Phase dispersée	Phase dispersante	Symbole
➢ Emulsion huile dans eau. ➢ Emulsion de type aqueux	Lipophile	Hydrophile	➢ L/H ➢ O/W ➢ H/E
➢ Emulsion eau dans huile ➢ Emulsion de type huileux	Hydrophile	Lipophile	➢ H/L ➢ W/O ➢ E/H

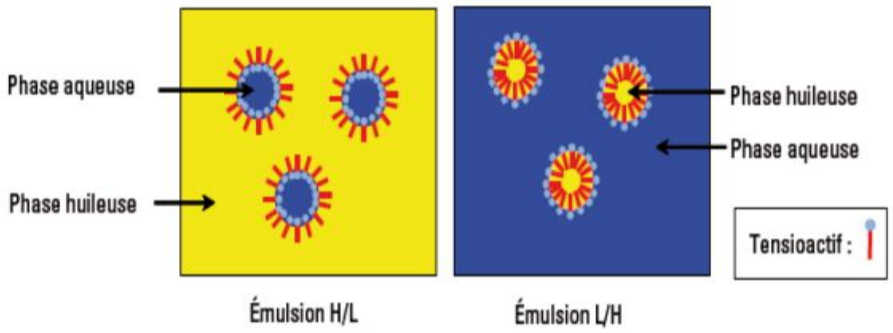


Figure I.3: Les deux types d'émulsions simples **[6]**

I.4.2.2. Émulsion doubles

Les émulsions multiples (ou émulsions doubles) sont des systèmes de dispersion très complexes qui se caractérisent par une faible stabilité thermodynamique. Ce sont des «émulsions d'émulsions », par ex. gouttelettes d'eau dans l'huile dans l'eau (eau dans l'huile

dans l'eau, E/H/E) ou gouttelettes d'huile dans l'eau gouttelettes dans l'huile (huile dans l'eau dans l'huile, H/E/H).**[12]**

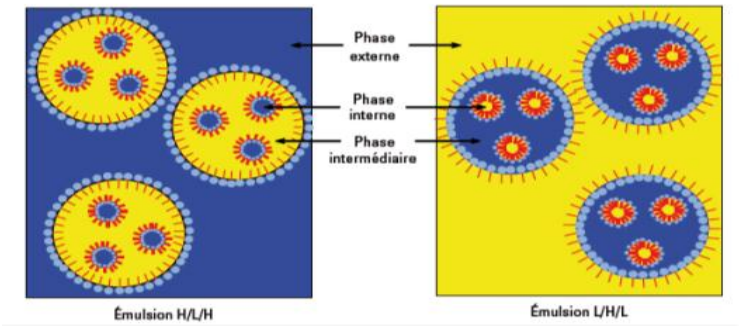


Figure I.4: Les deux types d'émulsions multiples. **[6]**

La taille d'un globule d'émulsion multiple est significativement plus grande que la taille des gouttelettes internes, en particulier lorsqu'il existe un certain nombre de gouttelettes internes. Les émulsions multiples sont souvent classées en trois groupes en fonction du nombre de gouttelettes internes présentes dans les globules de l'émulsion multiple:

- Émulsion multiple de type A, où le globule de l'émulsion multiple se compose uniquement d'une grosse goutte interne, c'est-à-dire que le globule d'émulsion multiple est de type « core-shell » ;
- Émulsion multiple de type B, où le globule d'émulsion multiple se compose de plusieurs petites gouttes internes.
- Émulsion multiple de type C, où le globule d'émulsion multiple consiste en un grand nombre de gouttelettes internes.

Les émulsions multiples (types A, B ou C) peuvent être classées en émulsions multiples huile dans eau dans huile (H/E/H) ou eau dans huile dans eau (E/H/E). Dans le cas d'une émulsion multiple H/E/H, les gouttelettes internes et la phase continue externe (matrice) sont composées d'huile; les gouttelettes d'huile internes sont séparées de la phase huileuse externe par la phase aqueuse. Une émulsion multiple E/H/E est constituée de petites gouttelettes aqueuses dispersées dans l'huile et cette émulsion eau-dans-huile (E/H) est elle-même dispersée sous forme de gros globules dans la phase aqueuse continue. Notez qu'il n'est pas nécessaire que la phase de gouttelette interne et la phase de la matrice externe d'une émulsion multiple soient identiques. **[11]**

I.5. Caractéristiques d'une émulsion

Pour préparer une émulsion stable, les comportements interfaciaux doivent être altérés par des tensioactifs et/ou des particules solides d'huile lourde pour exclure sa force motrice, qui est responsable de l'événement de coalescence. Un autre critère pour la formation d'une émulsion stable est la taille des gouttelettes. Cette dernière doit être suffisamment petite pour que la force de collision agissant sur les molécules en phase continue produise le mouvement brownien, qui empêche le tassement. Les caractéristiques d'une émulsion varient constamment du moment de la formation au moment de l'inversion de phase totale.

En conséquence, les émulsions fraîches peuvent présenter des caractéristiques différentes que les échantillons âgés. Ceci est attribué à la variation dans le type d'huile en raison de la présence de composants résorbables, différences dans le taux d'adsorption de l'émulsifiant et sa capacité à produire un film à l'interface. Lorsque le mélange est soumis à un changement considérable de la température ou de la pression, les caractéristiques de l'émulsion telles que la viscosité et la taille des gouttelettes peuvent être modifiées de manière significative. **[13]**

I.6. Généralités sur les tensioactifs

I.6.1. Définition d'un tensioactif

Les agents tensioactifs (généralement appelés tensioactifs) sont des molécules amphipathiques constituées d'une partie hydrophobe non polaire, généralement un hydrocarbure linéaire ou ramifié ou une chaîne fluorocarbonée contenant de 8 à 18 atomes de carbone, qui est attachée à une portion polaire ou ionique (hydrophile). La partie hydrophile peut donc être non ionique, ionique ou zwitterionique. La chaîne hydrocarbonée interagit faiblement avec les molécules d'eau dans un milieu aqueux, alors que le groupe de tête polaire ou ionique interagit fortement avec des molécules d'eau via des interactions dipôle ou ion-dipôle. C'est cette forte interaction avec les molécules d'eau qui rendent le tensioactif soluble dans l'eau. Cependant, l'action coopérative de la dispersion et de la liaison hydrogène entre l'eau et les molécules ont tendance à presser la chaîne d'hydrocarbures hors de l'eau et donc ces chaînes sont dites hydrophobes. L'équilibre entre les parties hydrophobes et hydrophiles de la molécule confèrent à ces systèmes leur propriété spéciale, par ex. accumulation à diverses interfaces et association en solution pour former des micelles. **[8]**

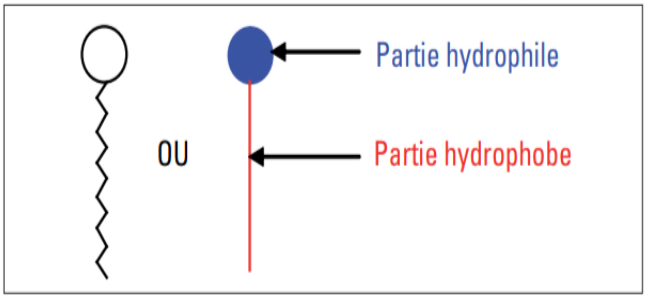


Figure I.5 : La schématisation classique des tensioactifs. **[6]**

Les tensioactifs trouvent une application dans presque toutes les industries chimiques, y compris les détergents, peintures, colorants, cosmétiques, produits pharmaceutiques, produits agrochimiques, fibres, plastiques. **[8]**

I.6.2. Classification des tensioactifs

I.6.2.1. Selon la charge

Une classification simple des tensioactifs basée sur la nature du groupe hydrophile est couramment utilisée. Quatre classes principales peuvent être distinguées, à savoir les anioniques, les cationiques, amphotère et non ionique :

- **Tensioactifs anioniques**

Il s'agit de la classe de tensioactifs la plus utilisée dans les applications industrielles en raison de leur coût de fabrication relativement faible et ils sont utilisés dans pratiquement tous les types de lessive. Pour une détergence optimale, la chaîne hydrophobe est un groupe d'alkyl linéaire avec une longueur de chaîne dans la région de 12 à 16 atomes de carbone. Les chaînes linéaires sont préférées car ils sont plus efficaces et plus dégradables que les ramifiés. Les groupements hydrophiles les plus couramment utilisés sont les carboxylates, les sulfates, les sulfonates et phosphates. Une formule générale peut être attribuée aux tensioactifs anioniques comme suit :

- Carboxylates: $C_nH_{2n+1}COO^-X$
- Sulphates: $C_nH_{2n+1}OSO_3^-X$
- Sulphonates: $C_nH_{2n+1}SO_3^-X$
- Phosphates: $C_nH_{2n+1}OPO(OH)O^-X$

Avec n= 8-16 atomes, et le contre-ion *X* et généralement Na^+ **[8]**

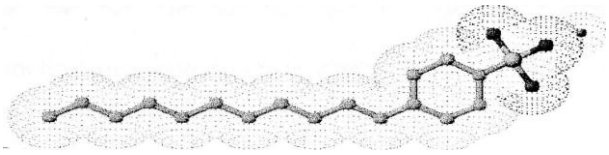


Figure I.6: Tensioactif anionique. **[9]**

- **Tensioactifs cationiques**

La grande majorité des tensioactifs cationiques sont basés sur l'atome d'azote porteur de la charge cationique. Les produits à base d'amine et d'ammonium quaternaire sont courants. Les amines ne fonctionnent comme tensioactif qu'à l'état protoné ; par conséquent, ils ne peuvent pas être utilisés à pH élevé. Les composés d'ammonium quaternaire, les « quats », en revanche, ne sont pas sensibles au pH. Les cationiques non quaternaires sont également beaucoup plus sensibles aux anions polyvalents. Les amines éthoxylées possèdent des propriétés caractéristiques à la fois des cationiques et des non ioniques. Plus la chaîne polyoxyéthylène est longue, plus le caractère non ionique de ce type de tensioactif n'est pas important. **[14]**

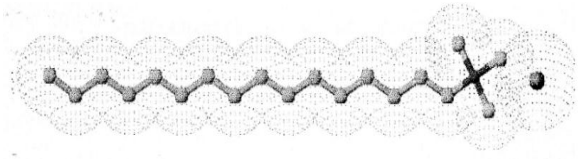


Figure I.7: Tensioactif cationique. **[9]**

- **Tensioactifs zwitterioniques**

Les tensioactifs zwittérioniques contiennent deux groupes chargés de signe différent. Alors que la charge positive est presque invariablement l'ammonium, la source de charge négative peut varier, bien que le carboxylate soit de loin le plus courant. Les zwitterioniques sont souvent appelés «amphotères ». Un tensioactif amphotère est un tensioactif qui passe de cationique net via zwitterionique à anionique net en passant d'un pH bas à un pH élevé. Ni le site acide ni le site basique ne sont chargés en permanence, c'est-à-dire que le composé n'est zwitterionique que sur une certaine plage de pH. **[14]**

- **Tensioactifs non ioniques**

Les tensioactifs non ioniques les plus courants sont ceux à base d'oxyde d'éthylène, appelés comme tensioactifs éthoxylés. Plusieurs classes peuvent être distinguées :

Éthoxylates d'alcools, éthoxylates d'alkylphénols, éthoxylates d'acides gras, monoalkaolamide éthoxylates, éthoxylates d'ester de sorbitan, éthoxylates d'amines grasses et éthylène copolymères oxyde-oxyde de propylène (parfois appelés tensioactifs polymères).Une autre classe importante de non ioniques est les produits multihydroxy tels que le glycol esters, esters de glycérol (et polyglycérol), glucosides (et polyglucosides) et les esters de saccharose. Les oxydes d'amine et les tensioactifs sulfinyl représentent des non ioniques avec un petit groupe de tête. **[8]**

I.6.2.2. Selon la balance HLB

La sélection de différents tensioactifs dans la préparation des émulsions (H/E ou E/H) est souvent faite sur une base empirique. Une échelle semi-empirique pour la sélection des tensioactifs est le nombre HLB développé par Griffin. Cette échelle est basée sur le pourcentage relatif de groupes hydrophiles et lipophiles (hydrophobes) dans la ou les molécules de tensioactif. Pour une goutte d'émulsion H/E, la chaîne hydrophobe réside dans la phase huileuse, tandis que le groupe de tête hydrophile réside dans la phase aqueuse. Pour une gouttelette d'émulsion E/H, les groupes hydrophiles résident dans les gouttelettes d'eau, alors que les groupes lipophiles résident dans la phase hydrocarbure. Le tableau I.4 donne un guide pour la sélection des tensioactifs pour une application particulière. Le nombre HLB dépend de la nature de l'huile. A titre d'illustration, le tableau I.5 donne les numéros HLB requis pour émulsionner diverses huiles. **[15]**

Tableau I.4 : Résumé des gammes HLB et leurs applications. **[15]**

Gamme HLB	Application
3–6	émulsifiant E/H
7–9	Agent mouillant
8–18	émulsifiant H/E
13–15	Détergent
15–18	Solubilisant

Tableau I.5 : Nombres HLB requis pour émulsifier diverses huiles. **[15]**

Huile	Emulsion E/H	Emulsion H/E
Huile de paraffine	4	10
Cire d'abeille	5	9
Linoline, anhydre	8	12
Cyclohexane	-	15
Toluène	-	15

I.7. Formation d'émulsion

Le processus de formation de l'émulsion est appelé "émulsification". L'émulsification est un processus dynamique et non spontané, dont l'énergie est nécessaire pour produire les gouttelettes.

Le processus d'émulsification nécessite généralement une quantité considérable d'énergie mécanique, pour disperser l'un des liquides sous forme de petites gouttelettes dans la phase continue. Il existe plusieurs méthodes d'émulsification, notamment; simple agitation, mélange avec des systèmes rotor-stator (figure I.8), injection de liquide à travers des membranes poreuses, ou des homogénéisateurs à haute pression et des générateurs d'ultrasons. Pour briser une gouttelette en plus petites tailles, la forme de la gouttelette doit être modifiée et cette déformation se produit lors du cisaillement ou de l'agitation de l'émulsion. Le processus de déformation et de rupture des gouttelettes est illustré dans la figure I.9. **[16]**

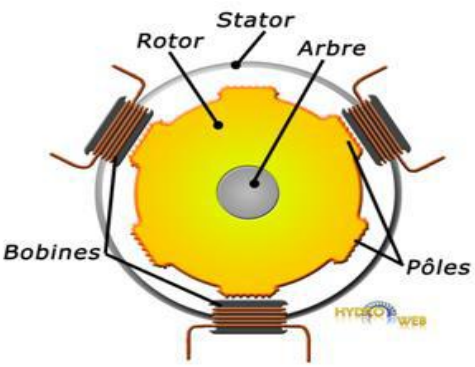


Figure I.8: Schéma général d'un rotor stator. **[7]**

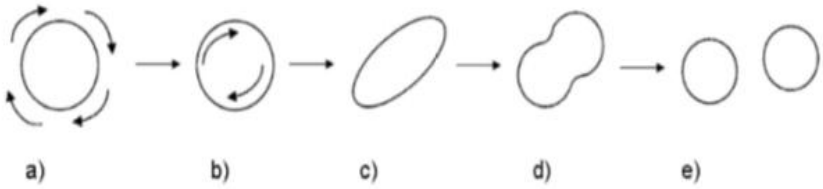


Figure I.9 : Déformation des gouttelettes au cours du processus d'émulsification. **[16]**

Pour la formation d'une émulsion trois conditions sont nécessaires :

- Immiscibilité entre les phases de l'émulsion ;
- Agitation pour disperser un liquide dans un autre ;
- Existence de tensioactifs.

Les caractéristiques de l'émulsion sont variables depuis le début de la formation jusqu'à leur pleine résolution, et elles dépendent de divers facteurs tels que la température, la vitesse d'agitation, le temps et la pression. Pour former une émulsion stable, un agent émulsifiant doit être ajouté au système. **[16]**

I.8. Stabilité des émulsions

On peut distinguer plusieurs processus de déstabilisation indiqués dans la figure I.10 et le tableau I.6:

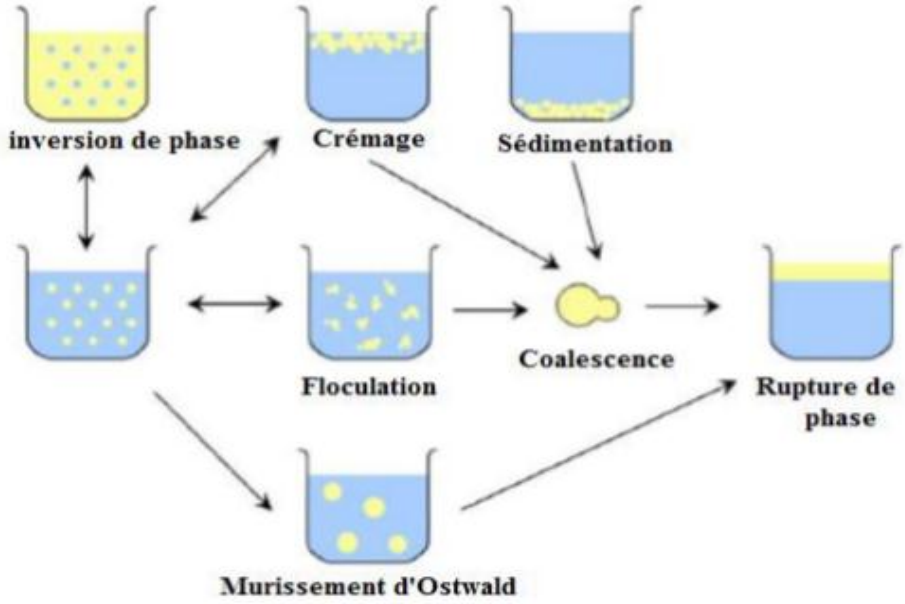


Figure I.10: Différentes phases d'instabilités d'une émulsion. **[7]**

Tableau I.6 : Mécanismes de déstabilisation observés dans les émulsions eau/huile et huile/eau (d'après d'autres publications **[13]**)

Mécanisme de déstabilisation	Définition	Détails
Sédimentation	- Gouttelettes d'eau tombant d'une émulsion, qui se produit normalement en raison à la différence de densité de l'eau et de l'huile.	- C'est une fonction de la structure chimique du tensioactif. - En raison de la différence de densité de l'huile et de l'eau
Crémage	- Pas une rupture réelle, mais la séparation de l'émulsion dans le plus dense partie (crème) et les autres parties.	- C'est une fonction de la structure chimique du tensioactif. - En raison de la différence de densité de l'huile et de l'eau.
Floculation	- Il présente un regroupement de gouttelettes individuelles en suspension tout en chaque goutte garde son identité.	- Cela dépend de la structure du tensioactif. - C'est la première étape vers un vieillissement ultérieur de l'émulsion et fusion. - Mécanismes plus fréquents dans les émulsions huile/eau
Coalescence	- Il représente le mécanisme par lequel deux ou plusieurs groupes séparés de particules miscibles sont actives car elles se tirent pour atteindre le moindre contact	- Il est affecté par la viscosité du film interfacial, tensioactif, l'élasticité du film, et la dynamique du film mince, liquide drainage.
Agrégation	- Elle correspond à la formation de gouttelettes accumulées dans une suspension.	- C'est le processus le plus courant, entraînant la déstabilisation des systèmes colloïdaux
Ostwald maturité	- Il représente la diffusion des gouttelettes dans la phase continue pour décrire la modification de structure inhomogène telle que la redéposition des particules de surfactant en particules plus grosses au fil du temps	- Généralement expérimenté dans les émulsions eau/huile. - Elle s'observe dans des gouttelettes liquides ou des solutions solides
Phase séparation	- Il est défini comme une séparation complète de l'huile et de l'eau en deux étapes.	- Elle est fonction du temps et du type d'émulsifiant.

I.9. Domaines d'application des émulsions

Les émulsions sont utilisées dans un large éventail d'applications notamment pharmaceutique, cosmétique, pétrochimique et agroalimentaire:

- **Pharmaceutique**

Les émulsions sont particulièrement utiles dans le secteur pharmaceutique pour transport et protection des principes actifs. Il est possible de délivrer les principes actifs pharmaceutiques encapsulés dans ces émulsions par voie orale, topique, mais aussi parentérale, en tant qu'adjuvant dans des vaccins**.**

- **Cosmétique**

Les émulsions sont utilisées pour la formulation des produits cosmétiques depuis l'antiquité, elles permettent en effectivement d'obtenir un large éventail de textures et d'améliorer la sensorialité des produits. Dans le cas des crèmes hydratantes par exemple, les émulsions multiples E/H/E évitent la sensation de graisse sur la peau tout en maintenant les propriétés hydratantes des émulsions inverses.

- **Pétrochimique**

Les émulsions sont très étudiées pour la récupération assistée du pétrole. D'ailleurs, l'injection sous forte pression d'une solution aqueuse contient un tensioactif permet de récupérer l'huile bloquée dans les porosités de la roche sous forme d'une émulsion directe.

- **Agroalimentaire**

L'émulsion alimentaire s'entend un groupe d'aliment auxquels les secteurs alimentaires réagissent beaucoup. De nombreux aliments prennent la forme d'émulsions simples ou complexe, dont le lait et ses dérivés (crème, beurre, yaourt, fromages, etc.), les produits à base d'œufs (la mayonnaise (H/E), crème anglaise), Assaisonnement (sauces froides par exemple: les vinaigrettes (E/H)). **[17]**

I.10. Conclusion

Les émulsions sont des formulations très importantes dans la vie quotidienne en raison de leur polyvalence. Dans ce chapitre, nous avons présentés des généralités sur les émulsions notamment la définition, leur composition chimique, techniques de formulation, ainsi que les différents phénomènes qui provoque l'instabilité de ces émulsions. Bien que les émulsions soient connues en galénique jusqu'à présent, leur développement a été difficile à stabiliser dans le temps en tant que système complexes caractérisé par un comportement et des propriétés variables à sa composition.



Chapitre II :

Huile de nigelle

II.1. Introduction

La Nigelle cultivée (Nigella sativa, N. sativa), communément appelée black seed ou cumin noir, a une histoire notable dans les pratiques médicinales traditionnelles en Asie du Sud-Est, Moyen-Orient, l'Afrique et les régions méditerranéennes, pour le traitement de multiples affections,**[18]** et plus particulièrement chez les musulmans selon la parole prophétique «Soignez-vous en utilisant la graine de nigelle, c'est un remède contre tous les maux à l'exception de la mort ... ». Ibn Sina, également connu sous le nom d'Avicenne en Occident, qui est célèbre pour son livre "Le Canon de la médecine", a conseillé d'utiliser la nigelle cultivée car elle aide le corps à récupérer et stimule son énergie. **[19]** Cette plante a de nombreuses propriétés médicinales acclamées telles que : hypotenseur, antibactérienne, antifongique, analgésique et anti-inflammatoire. **[20]**

II.2. Étymologie

La dénomination (genre) de Nigella avait pour origine la couleur noire de ses graines. Le terme « nigellus » est un terme latin diminutif de « niger » qui signifie noir. La nigelle est connue sous différents noms à travers le monde entier, selon qu'il s'agit de ses utilisations culinaires, de ses origines géographiques, ou de sa morphologie.

Habba sawda, ou habba baraka sont les deux noms arabes, qui signifient respectivement la graine noire, et la graine bénie. Elle est connue sous le nom de black seed ou de black cumin en anglais. **[21]**

La nigelle est connue sous différents noms à travers le monde entier, Les différentes dénominations du genre Nigella sont mentionnées dans le tableau II.1.

Tableau II.1: Noms vernaculaire de Nigelle sativa. **[19]**

Langue	Nom
Arabe	Habatut Barakah
	Shooneez
	Habba Sauda
	Habb al-baraka
	Kamun eswid
	Habbat al-barakah
Assamais	Kaljeera
	Kolajeera
Amharique	Tikur azmud
Bengali	Kalo jeeray
Bosniaque	þurekot6
Chinois	Hei Zhong Cao 黑種草
Anglais	Fennel flower, Black cumins
	Love-in-amist
	Nutmeg flower
	Roman coriander
	Black caraway or blackseed
	Black sesame
Français	Cheveux de Vénus
	Nigelle
	Nigelle de Crète
	Toute épice
Allemand	Schwarzkümmel
Hindi	Kalonji

II.3. Différentes espèces du genre Nigella L.

Le genre Nigella L. comprend environ 20 espèces réparties dans les régions méditerranéennes et à l'Asie occidentale. Les plus connues sont *Nigella sativa* (Nigelle cultivée), *Nigella arvensis* (Nigelle des champs), *Nigella Damascena* (Nigelle de Damas) et *Nigella Orientalis* (Nigelle orientale, figure II.1). **[22]** Les différentes d'espèces du genre Nigella sont mentionnées dans le tableau II.2.

Tableau II.2: Différentes espèces du genre Nigella. **[23]**

N. assyriaca Z.	N. unguicularis L.S
N. amoena S.	N. verrucosa
N. bucharica	N. arvensis L. (Nigelle des champs)
N. ciliaris	N. bicolor
N. corniculata D.C.	N. carpatha
N. damescena L. (Nigelle de Damas)	N. cilicica
N. deserti	N. cretica
N. doerfleri	N. degenii
N. fumariifolia K.	N. divaricata
N. glandulifera (Nigelle de Chine)	N. elata B.
N. indica	N. gallica (Nigelle de France)
N. latisecta P.H.D.	N. hispanica (Nigelle d'Espagne)
N. orientalis (Nigelle orientale)	N. lancifolia H.
N. papillosa	N. nigellastrum (Garidelle fausse)
N. sativa L.	N. oxypetala L.
N. truncata	N. segetalis B.
N. stellaris B.	N. persica

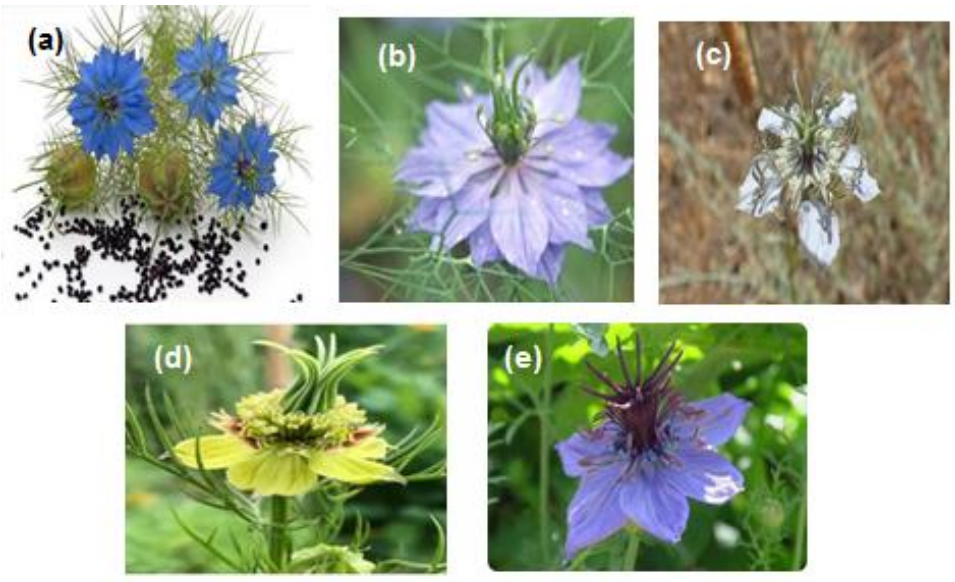


Figure II.1 : Quelques variétés du Nigelle : (**a**) *Nigella sativa*, (**b**) *N. damascena* 'Cambridge Blue', (**c**) *N. arvensis*, (**d**) **:** *N. orientalis*, (**e**) *Nigella hispanica*.

II.4. Nigella sativa L.

Nigella sativa L. est une plante herbacée annuelle appartenant à la Famille des Ranunculacées (Ranunculacea), originaire d'Asie du Sud-Est poussant dans les pays bordant la mer Méditerranée **[24]**, Elle est cultivée dans les régions tropicales et semi-arides. Les pays producteurs de la nigelle sont principalement la Syrie, l'Égypte, l'Arabie Saoudite, la Turquie, l'Iran, le Pakistan et l'Inde pour la gastronomie et à des fins médicinales. **[22]**

II.4.1. Culture

La nigelle cultivée est originaire d'Asie occidentale, sa culture s'est propagée jusqu'en Afrique. Elle se trouve très répondue en Inde, en Iraq et dans certains pays de la méditerranée, notamment la Syrie, la Turquie et les pays d'Afrique du nord. La plante prospère dans les terres semis arides en friche, les terrains cultivés, les broussailles, ainsi que dans les rocailles à 600 mètres d'altitude environ.

Les graines sont semées en général au printemps, elles commencent leur germination dans les trois à quatre semaines. Après environ six mois de croissance végétative, la floraison apparaît et les graines continuent leur maturation pendant un bon mois encore. Dès le jaunissement des feuilles, le brunissement des follicules, la récolte peut être faite à l'automne pour séchage à l'ombre.

Dans les pays d'Afrique du Nord, la Nigelle est cultivée dans les régions côtières. Elle fleurit au mois de mai et les graines sont récoltées au mois de juillet **[25]**. La nigelle est très peu cultivée en Algérie, elle est limitée à l'échelle traditionnelle dans les régions de: Ouargla, Biskra, Timimoun, Adrar, Médéa et Skikda,

II.4.2. Description botanique de *Nigella sativa L.*

La Nigelle cultivée est une plante herbacée florale, a une tige dressée qui peut atteindre 60cm de hauteur, ses feuilles basales et culinaires ressemblants à des pattes d'araignée sont finement divisées en petites lanières courtes, des fleurs très délicates de cinq à dix pétales selon les variétés, elles peuvent être colorées du bleu sombre au clair, rose jusqu'au blanc, elle fleurit au mois de juin-juillet. **[26]**

- Nom scientifique : *Nigella sativa L.*
- Noms communs : cumin noir, nigelle cultivée.
- Classification botanique : famille des renonculacées (Ranunculaceae).
- Hauteur : 20 cm à 70 cm
- Exposition souhaitée : Ensoleillée
- Type de sol : Sableux, Sec, Drainé, Acide
- Période de plantation : Mars, Avril, Mai
- Période de floraison : Juin, Juillet, Août, Septembre.
- Entretien : Arrosage modéré, facile d'entretien. **[26]**

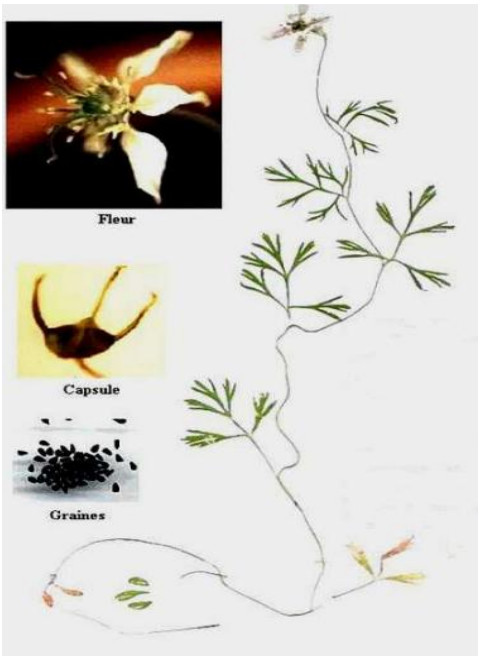


Figure II.2 : Plante *Nigella Sativa L.*

- Les feuilles pennatisquées, divisées en lobes étroits, sont lancéolées à linéaires et présentent des onglets nectarifères (figure II.3). Elles ressemblent à des pattes d'araignée ou bien s'apparentent au fenouil, d'où son surnom « fleur de fenouil ». Les feuilles inférieures sont petites et pétaloïdes et les supérieures sont longues. Elles sont disposées en face à face.



Figure II.3 : Feuilles de Nigella sativa L.

- Les fleurs sont solitaires (figure II.4), axillaires et terminales, bisexuées, radiales, très riches en Nectar. Elles sont petites à pétales blanchâtres et sépales pétaloïdes et présentent de nombreuses étamines insérées sur le réceptacle.



Figure II.4 : Fleurs de Nigella sativa L.

- La plante est hermaphrodite à reproduction autonome dont le fruit est une capsule formée de 3 à 6 carpelles soudés entre eux jusqu'à la base des styles persistants. Chaque capsule (figure II.5.a) contient plusieurs graines triangulaires blanchâtres et à maturité, elles s'ouvrent et l'exposition des graines à l'air les rend noire, ses graines sont ovoïdes (figure II.5.b) de 2 à 3.5 mm présentent 3 à 4 angles avec une face supérieure finement granuleuse et réticulée. Au broyage elles dégagent une odeur fortement aromatique, tenant du poivre et de l'anis et aussi de la noix de muscade. **[27]**

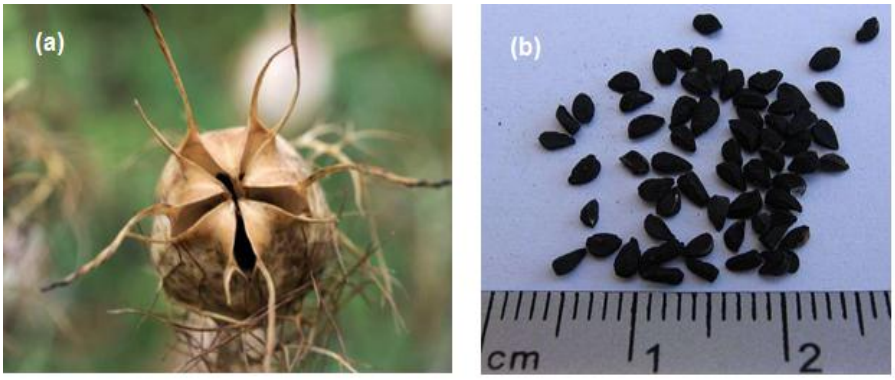


Figure II.5 : (a) Capsule et (b) graines de Nigella sativa L.

II.5. Composition chimique et phytocomposés

Les effets thérapeutiques des médicaments à base de plantes ont une corrélation directe avec leurs compositions chimiques. **[28]** Les recherches sur la composition des graines de Nigelle cultivées débutèrent en 1880 avec Greenish qui publia le premier rapport mentionnant la présence de 37% d'huile et 4,1% d'éléments minéraux. Par la suite, des recherches ont révélé la présence d'une variété de substances naturelles, notamment des

lipides, des dérivés de terpènes, des flavonoïdes, des alcaloïdes et des saponines. La nigelle cultivée constitue également une importante source de protéines et de sels minéraux: phosphore, calcium, potassium, magnésium et sodium. Le tableau II.3 résume la composition chimique de cette plante. **[29]**

Tableau II.3: Composition chimique de la nigelle cultivée (Nigelle sativa L.).**[26]**

Composés	Rendement (%)
Huile essentielle	0.4 - 1.19
Huile végétale	30 - 44.21
thymoquinone	26.8 - 54.8
p-cymene	14.7 - 38.0
Longifolene	1.2 - 10.2
Thujene	1.3 - 10.1
Carvacrol	0.5 - 4.2
Cubebene	0.4 - 3
Pinene	0.2 - 2.4
Limonene	0.7 - 2.3
Sabinene	0.2 - 1.6
Acide oléique	25
Acide palmitique	18

L'efficacité thérapeutique d'une plante dépend des phytocomposés (métabolites secondaires). Les phytoconstituants est un ensemble des métabolites primaires (impliqué dans le cycle de vie, presque le même dans toutes les cellules vivantes) et métabolites secondaires (produits des voies subsidiaires, traitant ainsi de l'efficacité médicinale dans le cas des plantes médicinales). Ils ne sont généralement pas produits dans les mêmes conditions. Dans la plupart des cas, la fonction spécifique des phytocomposés et leurs avantages pour l'organisme lui-même ne sont pas encore connus, cependant, ils possèdent des propriétés pharmacologiques bénéfiques pour les systèmes de santé des humains et des animaux. La distribution des métabolites secondaires diffère considérablement d'une plante à l'autre, et même des accessions différentes de la même espèce posséder des quantités et des qualités variables de composés pharmacologiquement actifs. **[19]**

A partir de la nigelle cultivée, de nombreux phytoconstituants ont été extraits, validés et rapportés. Sanower Hossain *et al.* **[19]** ont examiné les informations disponibles sur 171 phytoconstituants isolés de N. sativa, seulement sept composés ont montré des activités antimicrobiennes notamment tymoquinone, α-pinene, p-cymene, Longifolene, Thymol, Carvacro et Thymohydroquinone. Autres composés ont montré autres propriétés pharmacologiques. Par exemple, l'α-hédérine a un potentiel en tant qu'agent anticancéreux. Il est efficace contre les cellules cancéreuses du larynx HEp-2 et possède des propriétés antitumorales **[30, 31]**. Il peut également atténuer l'inflammation pulmonaire et améliore les cytokines **[32]**. L'Acide oléique et l'acide linoléique module l'interaction des glycosides cardiaques avec la pompe à sodium **[33]**, la nigellidine possède des activités immunomodulatrices, anti-inflammatoires et antioxydantes, et le longifolène est efficace comme insectifuge. **[34]**

Le plus grand nombre de métabolites a été isolé des graines, suivi des racines. Ces composés sont classés dans différentes catégories y compris : les alcaloïdes, acides gras, polyphénols, phytostéroles, terpènes et terpénoïdes.

II.5.1. Alcaloïdes

Un total de 12 alcaloïdes ont été isolés des graines (figure II.6). Les alcaloïdes naturels de N. sativa ont principalement un cycle indazole comme noyau, comme la nigellicine et la nigellidine. Le nigellidine-4-O-sulfate est le premier alcaloïde sulfaté de ce type. La nigellimine et le n-oxyde de nigellimine sont des alcaloïdes de l'isoquinoléine. Plusieurs alcaloïdes diterpéniques de type dolabellane, les nigellamines A1-A5, ont également été isolés. Les alcaloïdes naturels de type indazole n'ont été obtenus qu'à partir de N. sativa, ce qui signifie qu'ils sont un marqueur taxonomique potentiel. **[19]**

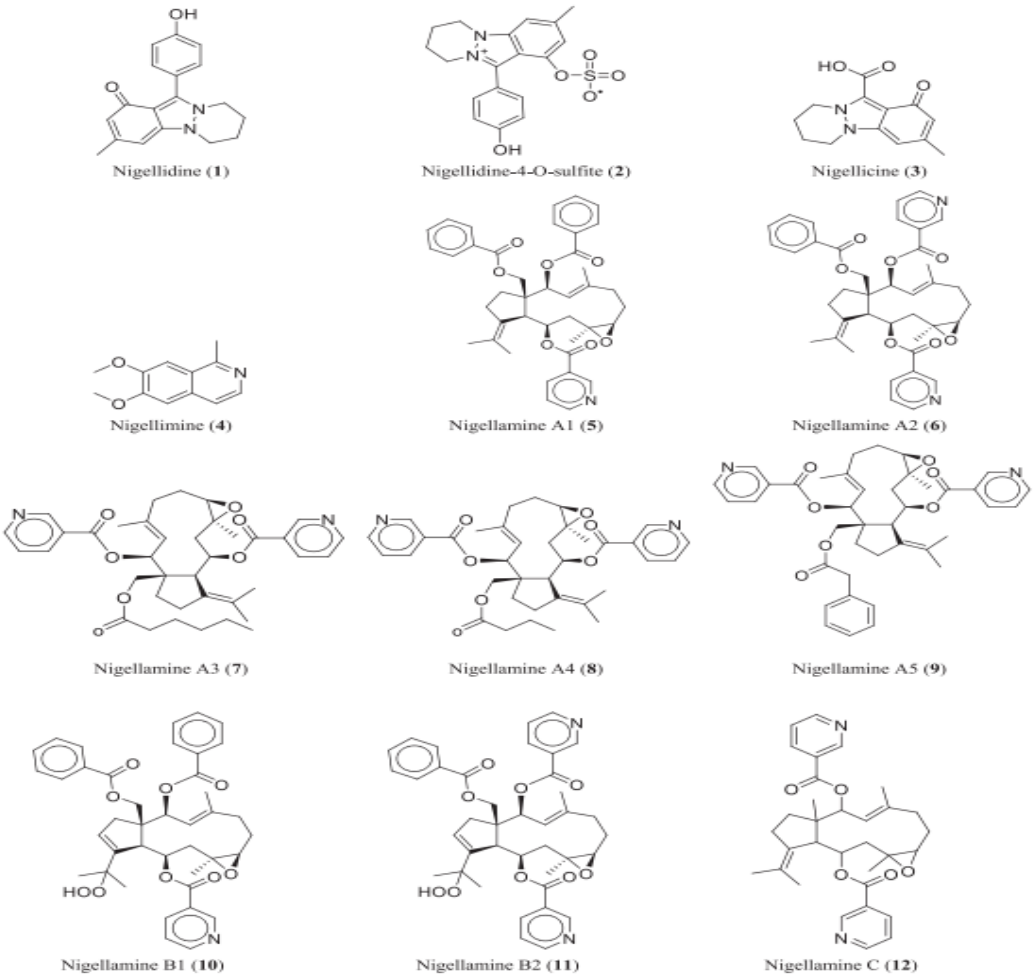


Figure II.6 : Structures chimiques des alcaloïdes isolés à partir de N. Sativa **[19]**

II.5.2. Acides gras

Les graines N. sativa contiennent une infime quantité d'huiles essentielles (0,4 à 1,49%), environ 30 à 45% d'huiles fixes et d'autres composés. L'huile de nigelle cultivée, extraite des graines noires, contient une quantité considérable d'acides gras polyinsaturés (AGPI), avec une quantité mineure d'acides gras polyinsaturés à longue chaîne. La composition en acides gras de l'huile de nigelle contient les acides suivants : acide laurique (0,6%), myristique (0,16%), palmitique (11,4%), margarique (0,07%), stéarique (3,2%), palmitoléique (1,15%), margaroléique(0,04%), oléique (8,1%), eicosénoïque (0,4%), linoléique (55,6%), linolénique (2,45%), acide béhénique (0,87%), érucique (1,0%), lignocérique (0,02%), eicosapentaénoïque (5,98%) et docosahexaénoïque (2,97%), (Figure II.7). L'huile de nigelle contient un pourcentage élevé des triacylglycérides, en particulier des groupes acyle d'oléate et de linoléate, qui sont considérés comme des sources essentielles et riches en oméga notamment des oméga-3 (Ω-3), oméga-6 (Ω-6) et oméga-9

acides gras (Ω-9), ainsi que des composés bioactifs, qui sont utilisés pour réduire le risque de maladies cardiovasculaires, d'inflammation, d'hypertension, de stress oxydatif, de troubles hormonaux, de cancer chronique, de diabète, de maladies neurodégénératives, de troubles métaboliques et cutanés, tout en améliorant également l'immunité et la circulation des vaisseaux sanguins. **[35]**

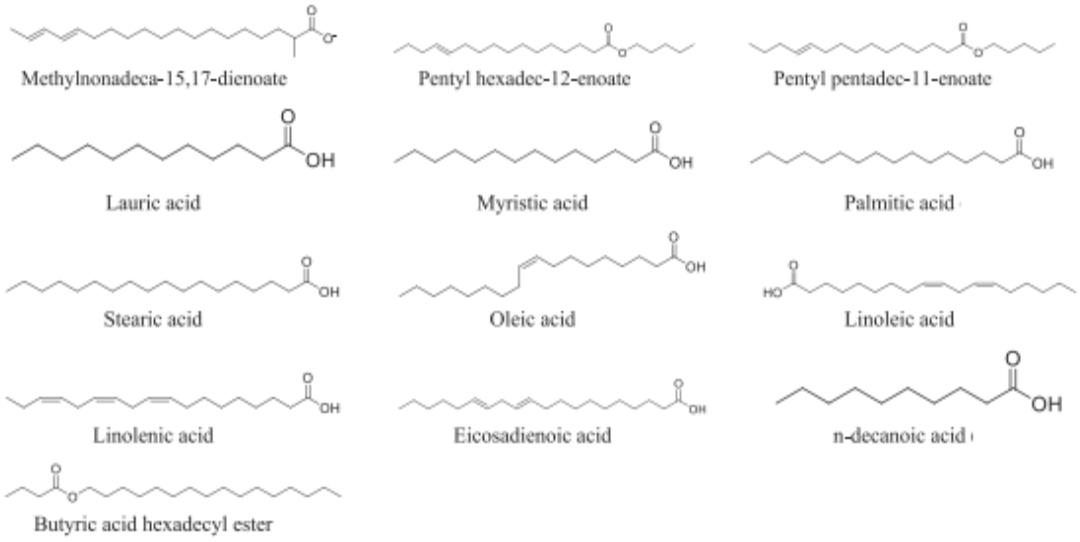


Figure II.7 : Structures chimiques des acides gras isolés à partir de N. sativa **[35]**

II.5.3. Polyphénols

Un total de 29 polyphénols ont été identifiés à partir des graines, des racines et des pousses de N. sativa (figure II.8 et II.9). Parmi eux, 17 composés étaient des acides phénoliques et les 12 autres étaient des flavonoïdes. L'acide férulique et l'acide sinapinique étaient les principaux esters d'acide phénolique identifiés à partir de l'extrait de graine de N. sativa. En revanche, l'acide vanillique était le principal composé phénolique des pousses (143,21 mg/ 100 g Poids sec) et des racines (89,94 mg / 100 g Poids sec). La quercétine et le kaempférol sont les principaux flavonoïdes identifiés dans l'extrait des graines, et la catéchine était le composé le plus abondant dans les racines (3,4 ± 0,74 mg/100 g Poids sec) et les pousses (7,26 ± 0,97 mg/100 g Poids sec).

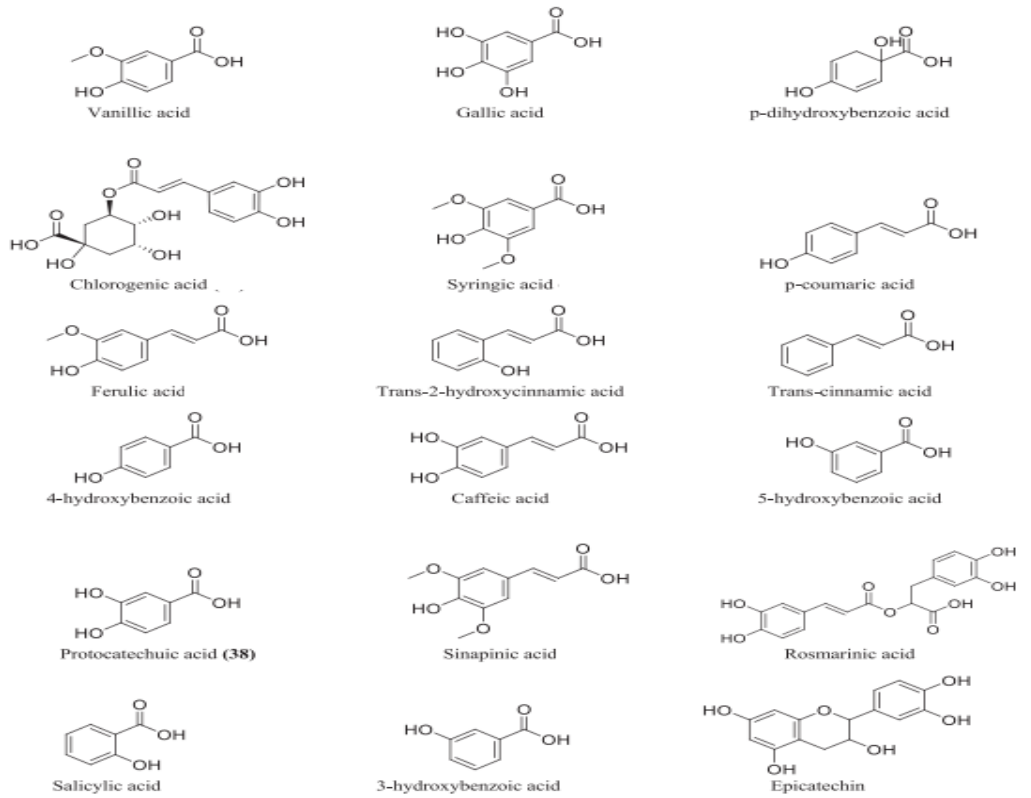


Figure II.8 : Structures chimiques de Polyphénols **[19]**

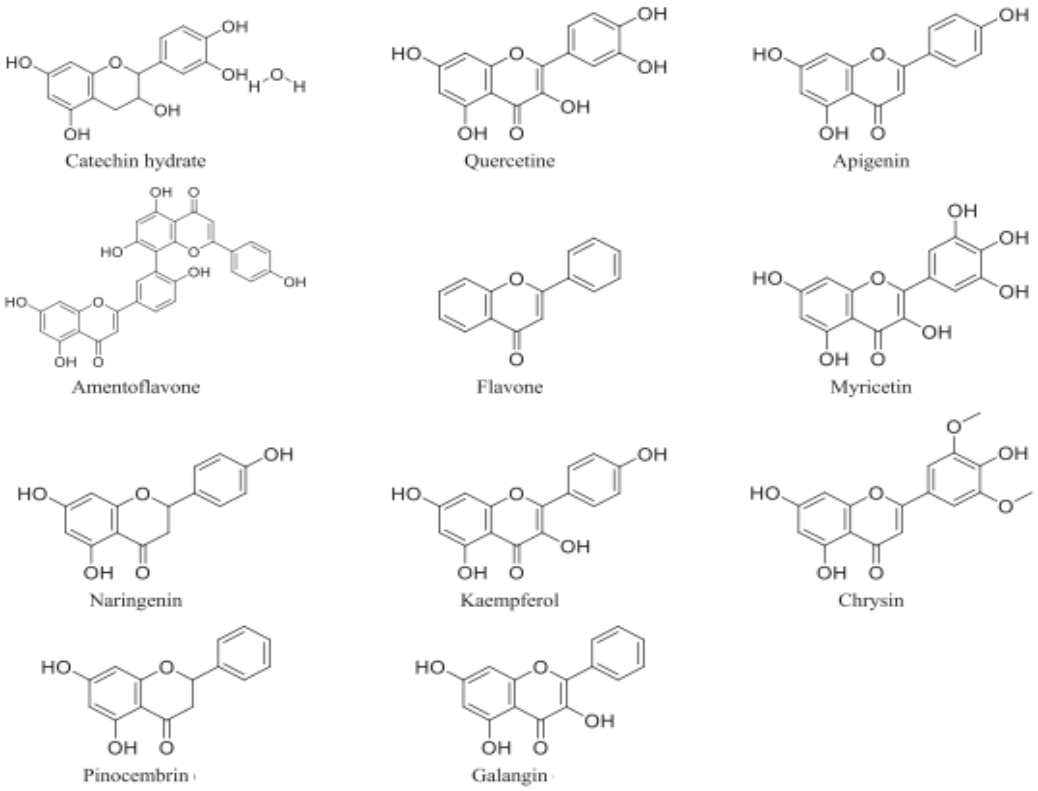


Figure II.9 : Structures chimiques des Polyphénols (suite) **[19]**

II.5.4. Phytostérols

La concentration totale en stérols varie de 1993,07 mg/kg à 2887,28 mg/kg dans l'huile extraite de N. sativa (figure II.10). Le β-sitostérol (44-54%) est le principal stérol de l'huile de graines de N. sativa. Le stigmastérol (16,57–20,92%) est le deuxième stérol majeur suivi du δ-7-stigmastérol, du δ-7-avenastérol, du campestérol et du cholestérol. **[36]**

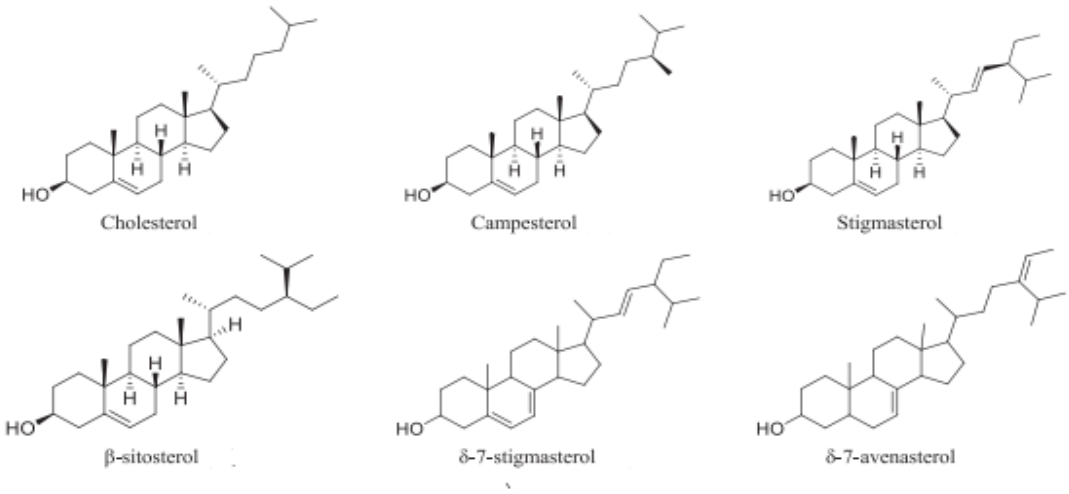


Figure II.10 : Structures chimiques des Polystérols. **[19]**

II.5.5. Terpènes et terpénoïdes

Plus de 50% des composés parmi les phytocomposés identifiés de N. sativa étaient des terpènes et des terpénoïdes. Sanower Hossain *et al.* Ont trouvé 91 composés appartenant à la famille des terpènes (figure II-11). Ils comprennent le monoterpène, le diterpène, les sesquiterpènes, les alcools monoterpénoïdes et la cétone. Les principaux terpènes- thymoquinone, trans-anéthole, p-cymène, α-pinène et carvone-ont été identifiés. Le thymoquinone, le principal composé de NS, a une concentration de 388,61 µg / ml.

II.5.6. Autres

Une étude a montré que la N. sativa comprend 21% de protéines, 35,5% de matières grasses, 5,5% humidité, et 3,7% de cendres et de glucides (rhamnose, xylose et arabinose). **[37]** Il contient également de la saponine triterpénique (α-hédérine), des phénylpropanoïdes (eugénol, ε-cinnamaldéhyde) et certains hydrocarbures alcaniques (n-nonane, dodécanal, etc.). **[19]**

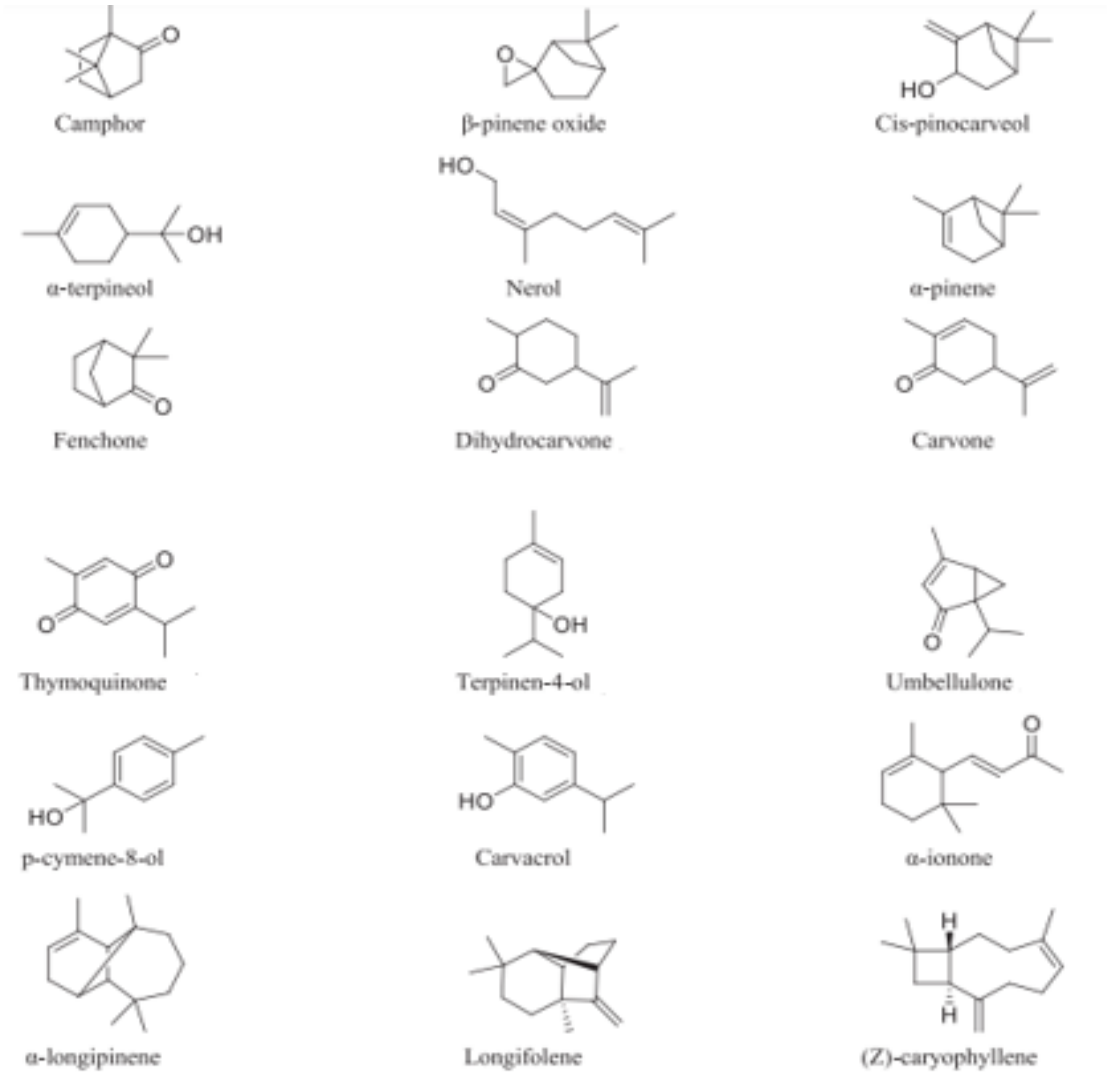


Figure II.11 : Structures chimiques de quelques terpènes **[19]**

II.6. Utilisation

II.6.1. Usages traditionnels et thérapeutiques

La nigelle cultivée est également décrite dans la Bible comme la " healing black seed", Hippocrates et Discroides l'ont appelée "Melanthion", et Pliny l'a inventée Gith. Elle est utilisée depuis l'Antiquité dans diverses civilisations du monde, et elle est recommandée comme "remède miracle "car elle a le potentiel de guérir plusieurs maladies et de réguler le processus de guérison naturelle dans le corps humain. Selon la culture médicinale indienne, les graines peuvent être consommées comme amer, anthelminthique, astringent, jaunisse, stimulant, fièvre intermittente, diurétique, paralysie, emménagogue, tas, maladies de la peau et dyspepsie. Ils peuvent être utilisés sous la forme d'un agent

anticancéreux, diabétique, bactérien, hépatotoxique, parasitaire et fongique, ainsi que d'un agent thérapeutique.

Les graines de la nigelle cultivée sont consommées directement comme ingrédient actif ou sous forme de tisane. L'extrait de graine noire a tendance à présenter des propriétés antioxydantes et inflammatoires. Il a été utilisé par les patients pour supprimer la toux, désintégrer les calculs rénaux, entraver le processus cancérigène, traiter les douleurs abdominales, la diarrhée, les flatulences et la poliomyélite exercent des activités cholérétiques et uricosuriques. Selon la littérature antérieure, les graines de Nigella sativa présentent diverses propriétés contre différents types de cancer, tels que le sang, la peau, le col utérin, le côlon, le foie, la prostate, le sein et les reins. L'extrait, les graines et l'huile de Nigella sativa se sont avérés efficaces pour gérer le stress oxydatif, l'hypertension et le diabète, ainsi que les ulcères et les épilepsies, foie gras, asthme, arthrite, troubles inflammatoires, cancers, et maladies parasitaires, chez Humains. **[35]**

II.6.2. Usages comme épice

L'huile de la nigelle cultivée a été proposée comme composant utile dans les aliments. C'est un assaisonnement apprécié, avec un arôme particulier et saveur, qui a été utilisée dans les cornichons, les produits de boulangerie, les confiseries, les sauces et les salades. Les graines de nigelle entières ou moulues sont utilisées comme épice. Elles servent à saupoudrer le pain, le Nan (pain de régions d'Asie centrale et du sud), les pâtisseries, les plats sucrés, les fromages, les sauces et les soupes pour les rendre plus appétissants. Elles sont également utilisées en accompagnement des graines de sésame dans la cuisine traditionnelle d'Asie, et sont ajoutées à différents plats selon les envies. **[35]**

Dans la région du Bengale, entre l'Inde et le Bengladesh, le cumin noir entre dans les recettes de légumes secs et dans la composition de certains mélanges d'épices comme le panchphoron, composé de cinq épices : le cumin, le fenouil, la moutarde, le fenugrec et la nigelle. En Afrique du nord, la graine de nigelle moulue entre dans la composition du ras el hanout, un mélange de 24 à 27 épices. En Égypte, les graines pulvérisées aromatisent le café à raison de 6 cuillères à café pour une cuillère de nigelle. En France, on l'utilise comme le poivre. En Algérie, les graines de nigelle sont utilisées beaucoup plus dans la boulangerie. Du point de vue artisanal, ces graines sont aussi utilisées pour garnir le pain traditionnel (khobz el dar). Les graines de Nigella sativa sont très utilisées dans

l'alimentation, ces données permettent déjà de les qualifier comme ayant une bonne valeur nutritive. **[27]**



Figure II.12 : Panchphoron. **[38]**

II.7. Principales propriétés thérapeutiques

Durant les 20 dernières années, plusieurs travaux ont porté sur l'étude de la nigelle cultivée, notamment sur les effets dues aux extraits de la graine de cette espèce ainsi qu'aux principaux constituants (notamment la thymoquinone) sur divers systèmes in vivo et in vitro. L'huile des graines de cette espèce a été décrite comme ayant une activité antitumorale, antioxydante, antibactérienne et un effet stimulant du système immunitaire. **[25]**

II.7.1. Activité antioxydante

L'activité antioxydante des graines de la nigelle cultivée a fait l'objet de plusieurs études. Ces graines pourraient être utilisées pour prévenir et traiter l'ischémie cérébrale et les maladies neurodégénératives, en raison de sa propriété antioxydante. L'extrait de N. sativa est composé de nombreux constituants antioxydants, y compris Timoquinone, carvacrol, tanéthole et 4-terpinéol. Les quinone, carvacrol et 4-terpineol sont des excellents neutralisateur en connectant les radicaux libres entre eux. Ces composants sont évalués plusieurs fois in vitro, les résultats indiquent que les différentes combinaisons de la nigelle cultivée ont des effets synergiques. **[39]**

II.7.2. Activité antimicrobienne

L'huile fixe présente un large spectre vis-à-vis de nombreuses souches bactériennes. Elle possède également un pouvoir inhibiteur supérieur à celui de la gentamicine sur une vingtaine de souches de Listeria *monocytogenes*.

L'huile de la nigelle cultivée possède également un effet antiviral vis-à-vis du virus de l'herpès: *cytomégalovirus murin* (MCMV). L'huile fixe présente aussi une excellente activité antifongique, notamment à l'égard *d'Aspergillus niger*. Par ailleurs, la thymoquinone exerce une activité inhibitrice vis-à-vis huit espèces de dermatophytes. **[25]**

II.7.3. Action anti-inflammatoire

En médecine traditionnelle, l'huile de N. sativa est largement utilisée pour traiter les éruptions cutanées, les maux de dos, les rhumatismes et les maladies inflammatoires associées. Des études ont montré que l'huile de végétale de nigelle et le thymoquinone exercent leur effet anti-inflammatoire en inhibant la production de ces composés, Les éosinophiles, les oxydants, la cytokine et les neutrophiles sont responsables de la création de conditions d'inflammation dans le corps. Des effets anti-inflammatoires de l'huile de N. sativa et de TQ ont été démontrés dans plusieurs modèles Inflammation de l'encephalomyélite expérimentale, de colite, de péritonite, d'arthrite et d'œdème, qui médient l'inhibition des médiateurs inflammatoires, prostaglandines et leukotrienes. **[39]**

II.8. Toxicité

La plupart des herboristes sont conscients de la toxicité de la nigelle. En fait, son utilisation n'est qu'à faible dose, qu'elle soit prise par voie interne, externe, fumigée ou inhalée. Une surdose de graines de N. sativa peut être fatale. **[40]** Une surdose de traitement peut entraîner une fausse couche. Comme pour la plupart des espèces de la famille des renonculacées, cette toxicité est principalement due à la présence de grandes quantités de saponines et d'alcaloïdes dans les graines de Nigelle. **[38]**

Le nombre d'études rapportant la toxicité était insuffisant pour juger définitivement de cet effet. De plus, la plupart de ces études montrent clairement que la Nigelle a un index thérapeutique élevé et un excellent profil de tolérance. Cependant, nous devons en tenir compte, en particulier chez les patients atteints de maladies graves. **[40]**

II.9. Conclusion

Parmi diverses plantes médicinales, la nigelle cultivée (N. sativa) émerge comme une plante miracle avec un riche bagage historique et religieux puisque de nombreuses recherches ont révélé son large spectre de pharmacologie. Elle est très populaire dans divers systèmes traditionnels de médecine comme Unani et Tibb, Ayurveda et Siddha. Les graines et l'huile ont une longue histoire d'utilisation folklorique dans divers systèmes de médicaments et de la nourriture.



Chapitre III :

Plans d'expériences

III.1. Introduction

Expérimenter c'est interroger la nature en tentant de canaliser le hasard, c'est souvent la voie vers de nouvelles connaissances, en mettant toutes les chances de son côté. Pour beaucoup d'expérimentations, la méthode des plans d'expériences est un outil indispensable à cause de sa remarquable efficacité et de la qualité statistique qu'elle permet d'atteindre.

Un plan d'expériences est constitué par un ensemble de combinaisons entre les niveaux des facteurs à tester (d'essais élémentaires), constituant une structure de données optimale pour l'obtention d'un modèle de bonne qualité statistique avec un nombre minimal d'essais. Une expérimentation peut parfois se décomposer de façon économique en plusieurs sous plans et la méthode des plans d'expériences est un outil au service d'une méthodologie de la recherche expérimentale qui elle-même s'insère dans un processus de pensée parfois complexe. Il devient alors possible de raccourcir de façon parfois impressionnante le délai nécessaire pour trouver des modèles expérimentaux ou numériques (plans d'expériences numériques), pour mettre au point des produits ou des procédures.

La méthode des plans d'expériences est un ensemble de moyens mathématiques permettant de structurer une expérimentation dans le but d'en extraire une information objective et pertinente, au moindre coût. C'est également une méthodologie permettant d'élaborer un projet expérimental qui implique souvent des acteurs et des équipes utilisant des moyens assez variés, qu'il faut faire coopérer de façon efficace, et autant que possible dans la convivialité.**[41]**

III.2. Historique

La méthode des plans d'expériences n'est pas une technique nouvelle. Elle date en fait du début du siècle avec les travaux de Fisher (1925). Les premiers utilisateurs de ces méthodes furent des agronomes qui ont vite compris l'intérêt des plans d'expériences et notamment la réduction du nombre d'essais lorsqu'on étudie de nombreux paramètres. En effet, les essais en agronomie sont très consommateurs de paramètres. L'étude du rendement d'un blé nécessite la prise en compte du type de terrain, des différents traitements, de l'ensoleillement, etc. De plus, dans ce type d'expérimentation, il faut attendre un an avant de connaître les résultats. Il était donc indispensable de réduire le

nombre d'essais sans perdre en précision et d'être capable de planifier d'une façon formelle la campagne d'essais. Mais cette technique est restée relativement confidentielle et n'a pas réussi à pénétrer de façon significative les industries occidentales avant les années soixante-dix.

Une des raisons de ce manque d'intérêt des industriels pour la méthode était probablement l'aspect trop théorique de l'approche proposée. Il a fallu les travaux du Docteur Taguchi dans les années soixante au Japon pour que les plans d'expériences pénètrent nos usines. Taguchi avec le pragmatisme qui caractérise les Japonais a su simplifier et clarifier l'utilisation des plans d'expériences. Son apport est considérable et la diffusion à grande échelle de ses travaux aux Etats-Unis date de la fin des années soixante-dix. Aujourd'hui, les plans d'expériences représentent un outil indispensable à tout industriel, du plus petit au plus grand, soucieux d'améliorer la qualité de ses produits. Au cours de ces dernières années, la méthode des plans d'expériences s'est imposée à l'ensemble des industriels. Autrefois confidentielle, elle connaît aujourd'hui un développement spectaculaire.**[42]**

De nombreux chercheurs contemporains ont continué le développement de cette branche de la statistique dans des voies diverses et variées: adaptation des plans d'expérience pour les problèmes de mélanges, introduction d'effets de blocs, utilisation de modèles non-linéaires, utilisation de modèles contenant des effets de voisinage, plans d'expérience pour expériences simulées, etc. **[43]**

III.3. Principes généraux de construction des plans d'expériences

L'objectif des plans d'expériences est de choisir au mieux les expériences à réaliser pour découvrir les règles d'évolution d'une grandeur d'intérêt en fonction de variables opératoires. Ces règles se traduisent le plus souvent par une formule mathématique ou par des consignes d'utilisation. Les formules trouvées sont essentiellement pratiques c'est-à-dire qu'elles donnent une représentation mathématique approchée du phénomène dans une région limitée de l'espace expérimental.**[44]**

Sous une forme mathématique, on peut écrire que la grandeur d'intérêt, *y*, que nous appellerons également réponse par la suite, est une fonction de plusieurs variables x_i (variables que nous appellerons aussi facteurs par la suite). On a :

$$y = f(x_1, x_2, x_3, \dots, x_k)$$

L'étude du phénomène se ramène à déterminer la fonction (f) qui lie la réponse y aux différents facteurs $x_1, x_2, \ldots, x_k$.

Pour approfondir cette approche il faut introduire quelques notions particulières et une terminologie spécifique aux plans d'expériences.**[45]**

III.4. Terminologie

La grandeur d'intérêt, qui est généralement notée y, porte le nom de réponse. Les variables qui peuvent modifier la réponse sont appelées facteurs (x_i). On parle donc des facteurs qui influent sur une réponse. Les termes facteur et réponse sont universellement employés dans le domaine des plans d'expériences.

III.4.1. Différents types de facteurs

La construction des plans et l'interprétation des résultats dépendent en grande partie des types de facteurs rencontrés dans l'étude. On distingue plusieurs types de facteurs. Nous retiendrons les types de facteurs suivants : les facteurs continus, les facteurs discrets, les facteurs ordonnables, les facteurs booléens.**[45]**

- **Facteurs continus**

La pression est un exemple de facteur continu. Dans un intervalle de pression donné, on peut choisir toutes les valeurs possibles. Il en est de même d'une longueur, d'une concentration ou d'une température. Les valeurs prises par les facteurs continus sont donc représentées par des nombres continus.

- **Facteurs discrets**

Au contraire, les facteurs discrets ne peuvent prendre que des valeurs particulières. Ces valeurs ne sont pas forcément numériques: on peut représenter un facteur discret par un nom, une lettre, une propriété ou même par un nombre qui n'a alors en soi aucune valeur numérique mais qu'une signification de repère. Par exemple, on peut s'intéresser aux couleurs d'un produit : bleu, rouge et jaune sont des facteurs discrets.

- **Facteurs ordonnables**

Il s'agit de facteurs discrets que l'on peut mettre dans un ordre logique. Par exemple, grand, moyen, petit, ou encore premier, deuxième, troisième et quatrième.

- **Facteurs booléens**

Les facteurs booléens sont des facteurs discrets qui ne peuvent prendre que deux valeurs : haut ou bas, ouvert ou fermé, blanc ou noir, etc.**[45]**

III.4.2. Espace expérimental

L'espace expérimental est représenté par un espace à deux dimensions, ce qui facilitera les représentations graphiques. Il est ensuite facile d'étendre les notions introduites à des espaces multidimensionnels.

Un facteur continu peut être représenté par un axe gradué et orienté. S'il y a un second facteur continu, il est représenté, lui aussi, par un axe gradué et orienté. Ce second axe est disposé orthogonalement au premier. On obtient ainsi un repère cartésien qui définit un espace euclidien à deux dimensions. Cet espace est appelé l'espace expérimental (Figure III.1). L'espace expérimental comprend tous les points du plan « facteur 1 × facteur 2 » et chacun d'eux représente une expérience.**[45]**

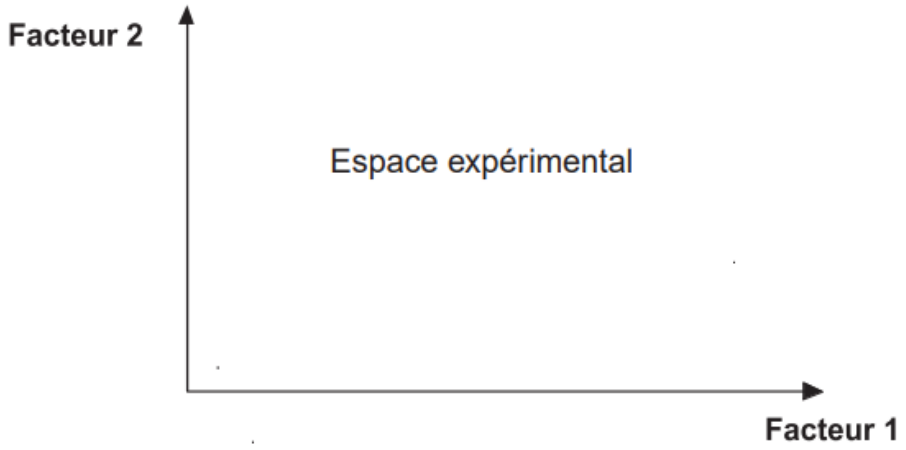


Figure III.1 : Schéma représentant un espace expérimental (chaque facteur est représenté par un axe gradué et orienté. Les axes des facteurs sont orthogonaux entre eux).

S'il y a un troisième facteur, on le représente aussi par un axe orienté et gradué, et on le positionne perpendiculairement aux deux premiers. À partir de quatre facteurs, on opère de même, mais il n'y a plus de représentation géométrique possible et l'on doit adopter une représentation purement mathématique de l'espace expérimental qui est un hyper volume à quatre dimensions.

III.4.3. Domaine d'un facteur

La valeur donnée à un facteur pour réaliser une expérience est appelée niveau, Lorsqu'on étudie l'influence d'un facteur, en général, on limite ses variations entre deux bornes (figure III.2). La borne inférieure est le niveau bas, et la borne supérieure est le niveau haut. C'est l'expérimentateur qui définit ces deux niveaux en fonction des spécificités de l'étude. L'ensemble de toutes les valeurs que peut prendre le facteur entre le niveau bas et le niveau haut, s'appelle le domaine de variation du facteur ou plus simplement le domaine du facteur.

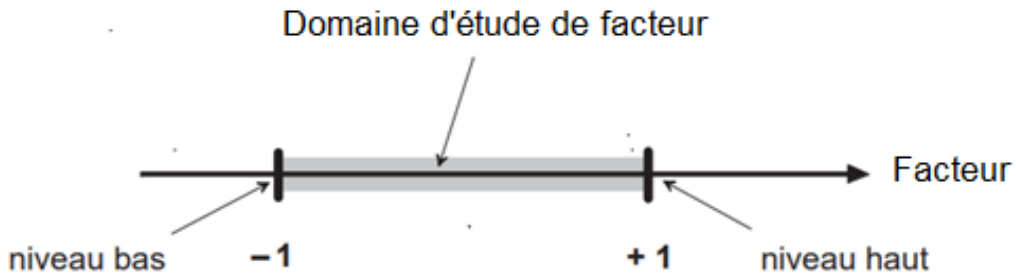


Figure III.2 : Le domaine de variation d'un facteur est constitué de toutes les valeurs numériques comprises entre la valeur minimale et la valeur maximale.

S'il y a plusieurs facteurs, chacun d'eux a son domaine de variation. Afin d'avoir une représentation commune pour tous les facteurs, on a l'habitude d'indiquer les niveaux bas par –1 et les niveaux hauts par +1.

À l'intérieur du domaine d'un facteur continu toutes les valeurs sont théoriquement possibles. On peut donc y choisir deux, trois ou plusieurs niveaux selon les besoins de l'étude. Par exemple, si l'on veut établir un modèle du second degré, on choisira trois ou quatre niveaux.**[45]**

III.4.4. Domaine d'étude

Dans la pratique, l'expérimentateur sélectionne une partie de l'espace expérimental pour réaliser son étude. Cette zone particulière de l'espace expérimental est le domaine d'étude (Figure III.3). Ce domaine est défini par les niveaux hauts et les niveaux bas de tous les facteurs et éventuellement par des contraintes entre les facteurs. Supposons que la vitesse d'un véhicule est le premier facteur à étudier. Le second facteur soit la surcharge du véhicule définie comme toute masse supplémentaire à celle du véhicule et du chauffeur. Le niveau bas de la surcharge est 0 kg et le niveau haut 300 kg, par exemple. S'il n'y a pas de

contraintes, le domaine d'étude est représenté par tous les points dont les surcharges sont comprises entre 0 et 300 kg et dont les vitesses sont comprises entre 80 et 120 km/h.

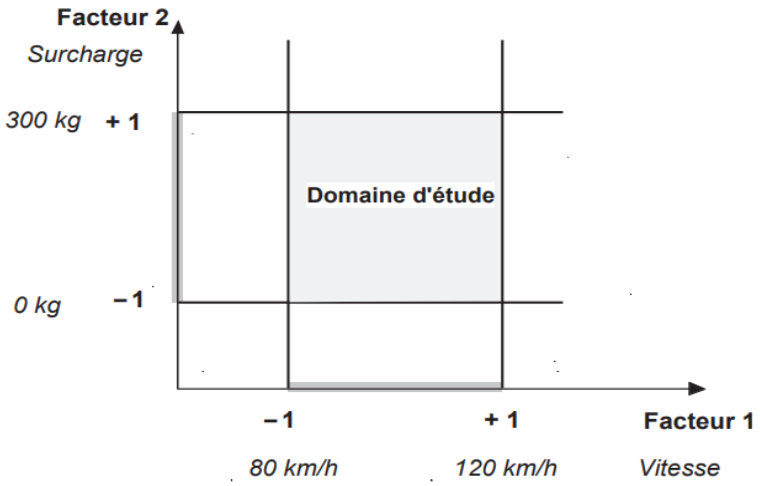


Figure III.3: Représentation d'un domaine d'étude (la réunion des domaines des différents facteurs).

Il peut y avoir des contraintes sur le domaine d'étude. Par exemple, il peut être impossible d'atteindre la vitesse de 120 km/h avec une surcharge trop élevée. La (Figure III.4) illustre une réduction possible du domaine d'étude initial. Une zone du domaine d'étude initial échappe aux expériences.**[45]**

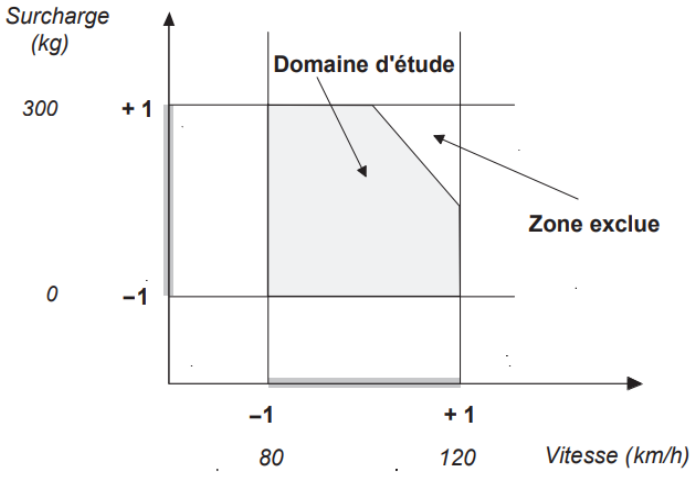


Figure III.4: Domaine d'étude sous contraintes (la partie grise).

III.5. Plans pour surfaces de réponse

Les plans du second degré ou plans pour surfaces de réponse permettent d'établir des modèles mathématiques du second degré. Ils sont utilisés pour les variables continues. Pour deux facteurs, on a :

$$y = a_0 + a_1x_1 + a_2x_2 + a_{12}x_1x_2 + a_{11}x_1^2 + a_{22}x_2^2 + e$$

Ces plans sont utiles à chaque fois que l'on se trouve près d'un maximum ou d'un minimum. Il existe plusieurs types de plans du second degré dont les principaux Box-Behnken, Composites et Doehlert.**[46]**

III.5.1. Plan de Box-Behnken

Ces plans ont été proposés en 1960 par Box et Behnken, ils permettent d'établir directement des modèles du second degré. Les points expérimentaux sont au milieu des arêtes de chacun des côtés du cube (Figure III.5). Ce plan comporte douze essais auxquels on peut ajouter un (ou plusieurs) point central. La matrice du Tableau III.1 est composée de douze essais accompagnés d'un seul point central. Dans la pratique on réalise souvent 3 ou 4 points au centre.

Les plans de Box-Behnken répondent à un critère d'optimisation particulier: l'erreur de prévision des réponses est la même pour tous les points d'une sphère (ou une hyper sphère) centrée à l'origine du domaine expérimental. C'est le critère d'isovariance par rotation. Le plus connu des plans de Box-Behnken est celui qui permet d'étudier trois facteurs.**[46]**

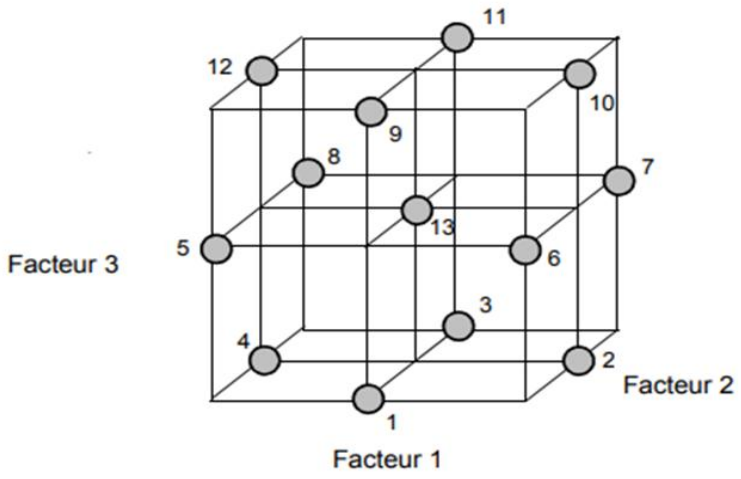


Figure III.5 : Plan de Box- Behnken pour trois facteurs.**[46]**

Tableau III.1 : Matrice d'un plan de Box- Behnken pour 3 facteurs.**[46]**

№ essai	Facteur 1	Facteur 2	Facteur 3
1	0	-1	-1
2	+1	0	-1
3	0	+1	-1
4	-1	0	-1
5	-1	-1	0
6	+1	-1	0
7	+1	+1	0
8	-1	+1	0
9	0	-1	+1
10	+1	0	+1
11	0	+1	+1
12	-1	0	+1
13	0	0	0

III.5.2. Plans composites

Un plan composite est constitué de trois parties :

1. Un plan factoriel dont les facteurs prennent deux niveaux.
2. Au moins un point expérimental situé au centre du domaine d'étude
3. Des points axiaux. Ces points expérimentaux sont situés sur les axes de chacun des facteurs.

La Figure III.6 représente un plan composite pour deux facteurs. Les points A, B, C et D sont les points expérimentaux d'un plan 2^2. Le point E est le point central. Ce point peut avoir été répliqué une ou plusieurs fois. Les points F, G, H et I sont les points axiaux. Ces quatre derniers points forment ce que l'on appelle le plan en étoile. On réalise 9 essais et 6 coefficients doivent être déterminés. Il faut donc résoudre un système de 9 équations à 6 inconnues.

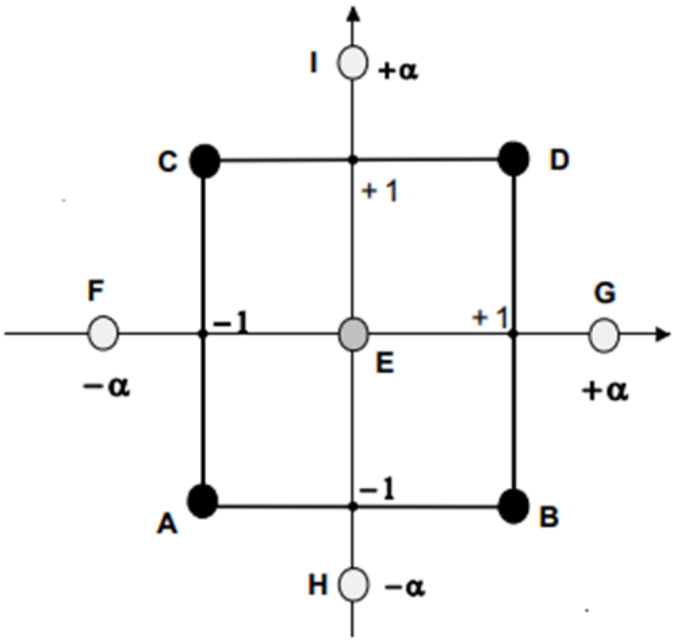


Figure III.6 : Plan composite pour deux facteurs.**[46]**

Les coordonnées des points en étoile dépendent du critère d'optimalité choisi. En général, on retient le critère de presque orthogonalité ou le critère d'isovariance par rotation. Les plans composites prennent facilement la suite d'un premier plan factoriel dont les résultats sont insuffisamment expliqués par un modèle du premier degré. Il suffit d'effectuer les expériences correspondant aux points en étoile et de faire les calculs sur l'ensemble de toutes les expériences. Les plans composites sont parfaitement adaptés à une acquisition progressive des résultats.**[46]**

III.5.3. Plan de Doehlert

Doehlert a proposé une répartition uniforme des points expérimentaux dans l'espace expérimental. Tenant en considération deux facteurs, tous les points sont à la même distance du centre du domaine expérimental et sont régulièrement disposés sur le cercle trigonométrique. Ils forment un hexagone régulier. En prenant les coordonnées de chaque point expérimental, il est aisé de construire la matrice d'expériences qui est donnée par le tableau III.2.

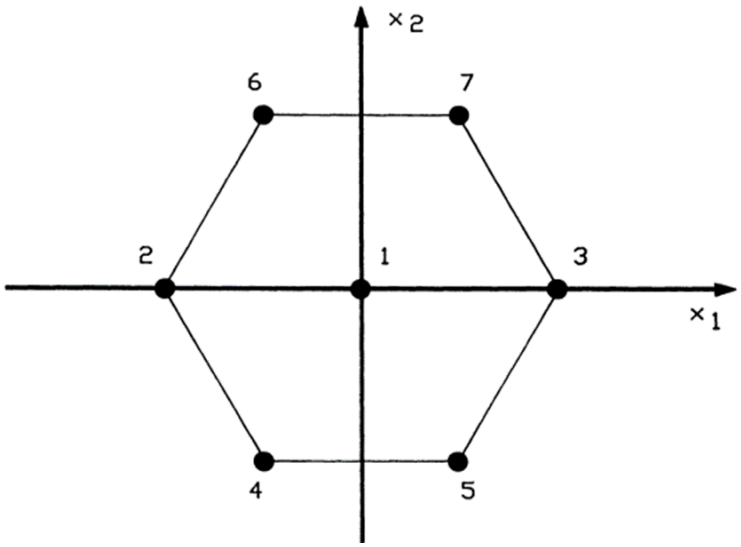


Figure III.7 : Disposition des points expérimentaux d'un plan de Doehlert pour deux facteurs.**[44]**

Tableau III.2 : Matrice d'un plan de Doehlert à deux facteurs.**[44]**

№ essai	**Facteur 1**	**Facteur 2**
1	0	0
2	-1	0
3	+1	0
4	-1/2	-√3/2
5	+1/2	-√3/2
6	-1/2	+√3/2
7	+1/2	+√3/2

Si l'expérimentateur désire réaliser des expériences supplémentaires pour explorer le domaine expérimental, il lui est facile d'ajouter des essais qui conservent la disposition régulière des points expérimentaux dans le plan. Par exemple, les trois points A, B et C (Figure III.8) ajoutés aux points déjà existants 1, 3, 5, et 7 donnent à nouveau un hexagone régulier. Dans un espace à trois dimensions, les points expérimentaux se répartissent régulièrement sur une sphère de rayon unité (on considère toujours des variables centrées réduites). Aux six points de l'hexagone régulier viennent s'ajouter six.**[44]**

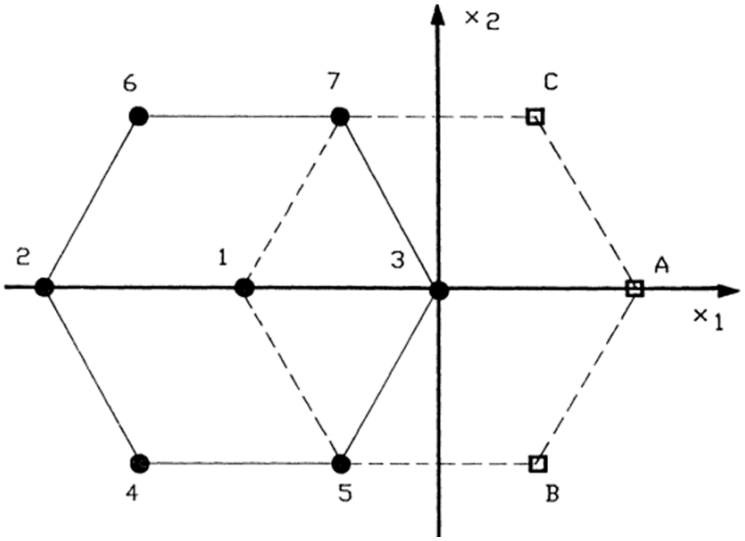


Figure III.8 : Nouveau plan de Doehlert qui peut être construit en utilisant quatre résultats du plan précédent.**[44]**

III.6. Conclusion

Actuellement, un bon nombre de procédés de fabrication ou d'expériences en laboratoire deviennent de plus en plus complexes car ils dépendent d'un grand nombre de variables difficiles à régler intuitivement. Seule la réalisation d'expériences va permettre d'appréhender et de modéliser de tels phénomènes complexes. Si ces expériences sont effectuées sans une méthodologie rigoureuse il est fort probable qu'elles vont soit conduire à des impasses (modèle impossible à ajuster, résultats incohérents, etc.…) soit à des résultats de qualité décevante. C'est pourquoi la méthode des plans d'expérience est préconisée afin d'optimiser ce type de démarche.**[43]**

Chapitre IV :

Matériel et Méthodes

IV.1. Objectif du travail:

L'objectif de ce travail consiste à la formulation d'un émulgel à base d'huile végétale de nigelle cultivée. L'étude expérimentale est divisée en trois parties principales :

- La première partie consiste à la détermination de la quantité de l'inuline nécessaire pour obtenir un gel.
- La deuxième partie consiste à la caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de Nigelle.
- La dernière partie de notre travail, a pour objectif la formulation de l'émulsion gélifiée en utilisant un plan d'expérience.

Cette partie expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire Chimie 5 du Hall Technologie de pôle universitaire d'Ouazra.

IV.2. Matériel et produits utilisés

Le matériel et produits utilisés dans cette étude expérimentale sont résumée dans le tableau IV.1 et IV.2 respectivement.

Tableau IV.1 : Matériel utilisés.

Matériels	Fournisseurs
Agitateur / plaque chauffante	Heidolph (MR Hei-Standard)
Balance	DENVER instrument
Viscosimètre	HAAKE – ViscoTester VT5R
Homogénéiseur (ultra-turrax)	IKA® T18 basic
Microscope optique	OPTECH
Centrifugeuse	Hettich (Zentrifugen)
pH mètre	JENWAY
Réfractomètre	Fxacta+optech
Spectrophotomètre IR transformé de fourier	/
Conductimètre	HENNA (HI 8733)

Tableau IV.2 : Produits utilisés.

Nom	Formule générale	M (g/mol)	Pureté	Fournisseurs
Inuline	$C_6H_{10n+2}O_{5n+15}$	4140	99	Beneo-Orafti, BENEO GmbH, Germany
Ethanol	C_2H_{6O}	46,07	96	Sigma-Aldrich
Ether de pétrole	/	/	/	/
Hydroxyde de Potassium	KOH	56.11	97	BDH chemicals Ltd
Acide chlorhydrique	HCl	36.458	33	Chem-Lab NV
Phénophtaléine	$C_{20}H_{14}O_4$	318.32	/	Sigma- Aldrich
Tween 80	$C_{64}H_{124}O_2$	1310	/	/

- **Matière végétale**

Dans notre étude, la matière végétale utilisée est l'huile de nigelle obtenue par pression à froid des graines de nigelle cultivée commerciale (Nigella Sativa L.). Ces graines sont d'origine de la Syrie.

IV.3. Préparation des gels d'inuline

L'inuline a été découverte il y a plus de deux siècles par Rose et depuis lors, sa présence dans de plusieurs plantes est devenue une évidence. Certains exemples de plantes contenant de grandes quantités d'inuline sont le topinambour, la racine de chicorée, la racine d'asperge et le pissenlit. Les légumes et les fruits les plus couramment consommés qui contenant de l'inuline sont l'oignon, l'ail, le poireau, l'orge et le seigle. **[47]**

L'inuline (figure IV.1) est un polysaccharide de stockage composé d'unités de β- D-fructose liées entre elles par des liaisons β (2→1), la molécule se termine généralement par une molécule de glucose liée avec une liaison α (2→1).**[48]** La longueur de la chaine fructose (degré de polymérisation) variée entre 2 et 60, Il existe trois catégories d'inuline, y compris les oligofructoses (DP < 10), inuline de longue chaînes (DP > 23) et l'inuline native (DP = 2–60). **[47]** Les oligofructoses ont une solubilité et une douceur plus élevées

que l'inuline à longue chaîne et ils sont utilisés comme substitut du sucre et exhausteur de sensation en bouche dans les produits hypocaloriques. L'inuline à longue chaîne, quant à elle, est utilisée comme agent de remplissage et substitut de graisse car elle est moins soluble et plus visqueuse.

L'inuline appartient à la catégorie des prébiotiques et des fibres alimentaires hypocaloriques (par rapport aux autres glucides). Ce composé peut également réduire la réponse glycémique, améliorer la santé gastro-intestinale, affecter le métabolisme des graisses et réduire le risque d'ostéoporose et de cancer du côlon. **[49]**

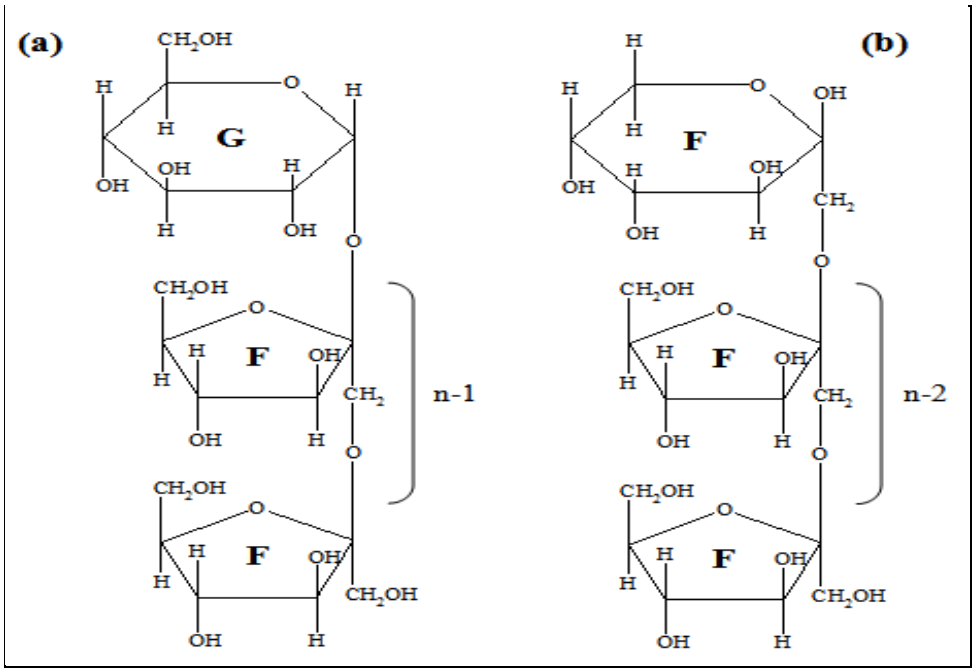


Figure IV.1 : Structure chimique de l'inuline (a) GFn, (b) Fn. n est le degré de polymérisation ou le nombre d'unités β-D fructofuranose. [**50]**

Les propriétés physico-chimiques de l'inuline, notamment la solubilité et la viscosité, diffèrent selon le degré de polymérisation. La solubilité de l'inuline dans l'eau dépend principalement de la distribution de la longueur de la chaîne d'inuline. Dans la figure IV.2, la solubilité maximale ou directe des types d'inuline native et à longue chaîne est montré. Comme on peut le voir, la solubilité augmente avec la diminution de la longueur de la chaîne.

Les solutions d'inuline native dans l'eau ont une très faible viscosité, une solution d'inuline de longue chaîne présente une viscosité légèrement supérieure en solution par rapport à l'inuline native. **[51]**

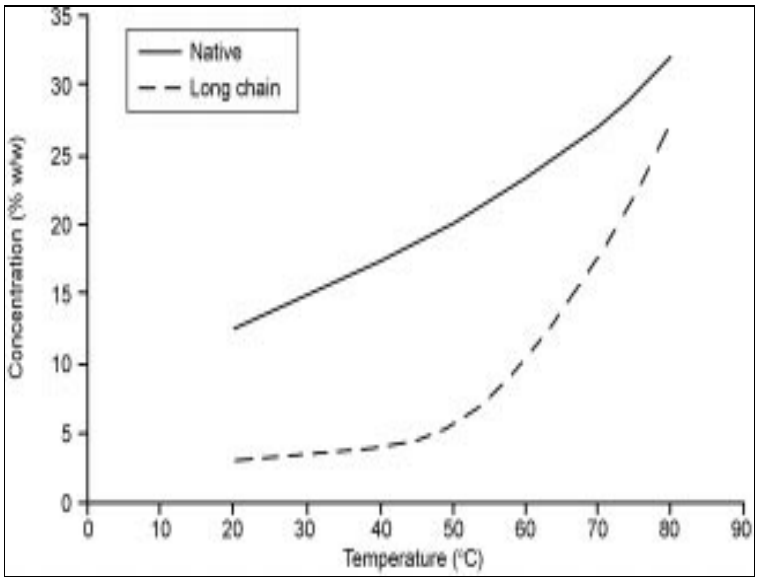


Figure IV.2: Solubilité maximale de l'inuline native et à longue chaîne en fonction de température.

IV.3.1. Caractérisation de l'inuline

IV.3.1.1. Détermination de taux d'humidité de l'inuline

L'inuline utilisé lors de ce travail est de haut poids moléculaire (DP>23), elle est extraite à partir des racines de chicorée et fournie de la part de Beneo-Orafti (BENEO GmbH, Germany).

La détermination du taux humidité de l'inuline s'effectue conformément au protocole ci-dessous : On a prend une masse initiale de poudre de l'inuline HPX (m_0) dans un verre de montre puis on sèche cette poudre dans une étuve à 105°C pendant 24h jusqu'à avoir une masse finale constante (m_2). **[52]** Le taux d'humidité est donné par l'expression suivante **:**

$$\boldsymbol{T_H}(\%) = \frac{\boldsymbol{m_1 - m_2}}{\boldsymbol{m_1}} * \mathbf{100} \qquad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(IV.1)}$$

Avec:

T_H: Le taux d'humidité en (%).

m_1: La masse de verre de montre rempli avant le séchage en g.

m_2: La masse de verre de montre après le séchage en g.

IV.3.1.2. Caractérisation par spectroscopie FTIR

Une caractérisation infrarouge de l'inuline a été réalisée en utilisant un spectrophotomètre FTIR afin de déterminer les groupements fonctionnels sur cette molécule. Une quantité de l'inuline sous forme de poudre fine est mélangée avec du KBr, le mélange est pressé pour avoir une pastille fine et translucide. Cette dernière est déposée directement dans le spectrophotomètre IR. Après avoir été placée dans le support adéquat, la pastille est positionnée sur la trajet du rayon. Le spectre est alors 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.

La caractérisation par spectroscopie FTIR de l'inuline est réalisée au niveau du laboratoire d'analyses physico-chimiques d'Ouazra.

IV.3.2. Formation d'un gel à base d'inuline

L'inuline de haut degré de polymérisation (DP>23) et possédant une distribution moléculaire de 11 à 60 unités de fructose, est classée comme inuline de haute performance (HP), qui montre une faible solubilité et une viscosité élevée par rapport aux courtes chaines. **[53]**

En présence d'eau, l'inuline est capable de former un gel particulier à la texture crémeuse et tartinable. La structure des gels d'inuline se compose d'un réseau tridimensionnel des microparticules cristallines d'inulines insolubles capables d'immobiliser les molécules d'eau.

Ce mécanisme est similaire à la structuration de la graisse dans les émulsions huile dans l'eau. **[54]** La concentration critique minimale (C_{min}) nécessaire à la gélification de l'inuline dépend de nombreux paramètres comme la longueur de la chaîne ou le DP, la température et la force de cisaillement. **[55]**

Dans cette partie de l'étude et pour déterminer la quantité minimale et maximale nécessaire à la formation du gel d'inuline, on va étudier l'influence de la vitesse d'agitation sur la formation du gel. Pour cela, deux protocoles ont été mis en jeu, le premier est basé sur l'agitation magnétique à vitesse moyenne 300 tours/min et dans le deuxième, on a utilisé une grande vitesse d'agitation (10000 tours/min).

L'ensemble des manipulations a été réalisé à température ambiante pour les deux protocoles:

IV.3.2.1. Protocole 01 : agitation normale

Dans un bécher, on dissout une quantité précise de l'inuline (selon le tableau IV.3) dans 90mL d'eau distillée pendant 2 min, le mélange est laissé sous agitation (vitesse = 300 t.p.m) pendant 30 min. Après les formulations préparées sont laissées se reposer toute la nuit (figure IV.3). **[56]** Les concentrations préparées sont indiquées sur le tableau IV.3.

Tableau IV.3 : Différentes concentrations d'inuline préparées (volume préparé est de 90ml).

% d'inuline (g/g)	05	10	15	20	25	30	35	40	45
Masse d'inuline (g)	04.5	09	13.5	18	22.5	27	31.5	36	40.5

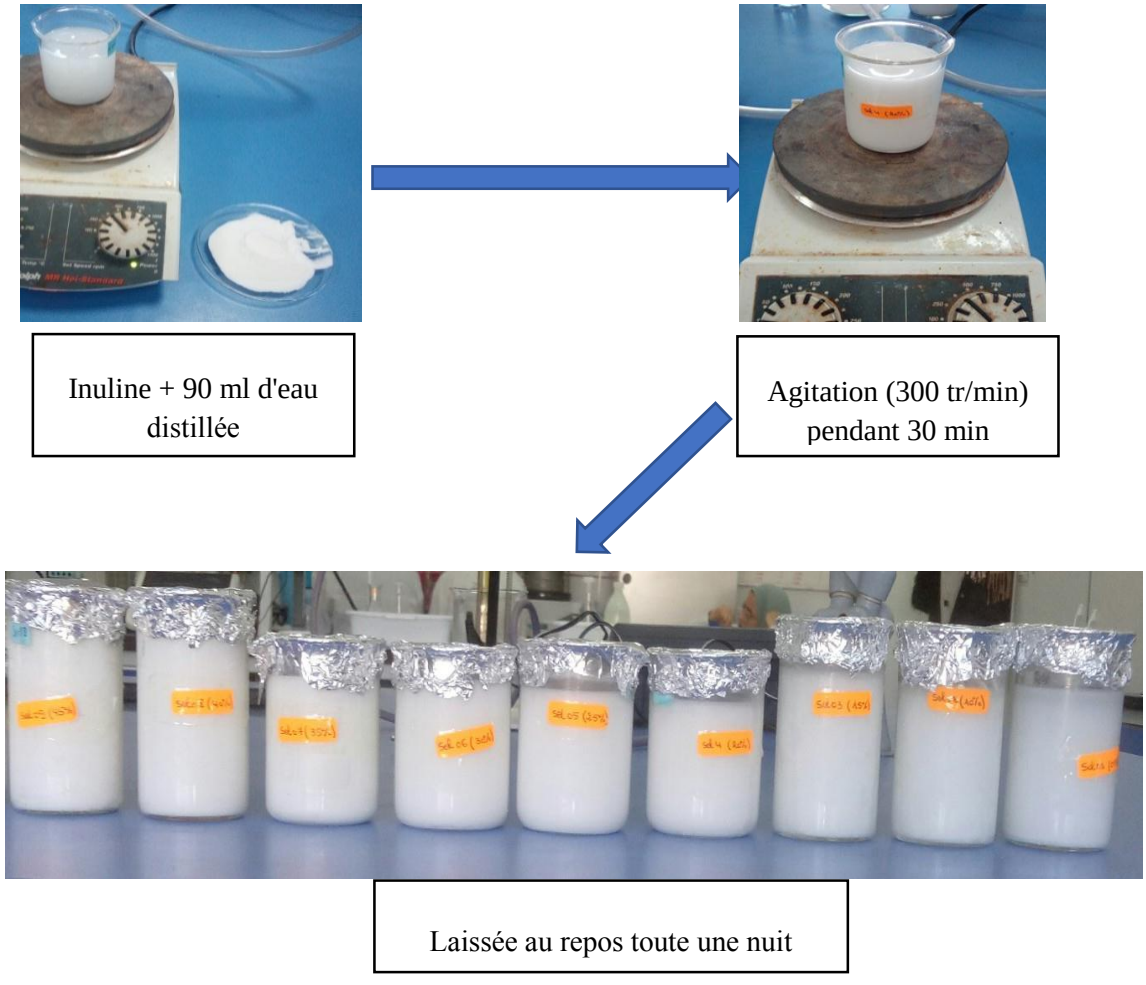


Figure IV.3: Protocole 01 de préparation des gels de l'inuline

IV.3.2.2. Protocole 02 : Agitation en utilisant l'ultra-turax

Dans un bécher, on dissout une quantité précise de l'inuline (selon le tableau IV.3) dans 90 mL d'eau distillée pendant 2 min, le mélange est laissé sous agitation à 250 tr/min pendant 5min. après on passe à une agitation très rapide en utilisant l'ultra-turrax (vitesse = 10000 tr/min) pendant 15 min. **[57]** Les formulations préparées ont été ensuite laissées se reposer toute la nuit. Toutes les étapes sont résumées dans la figure IV.4.

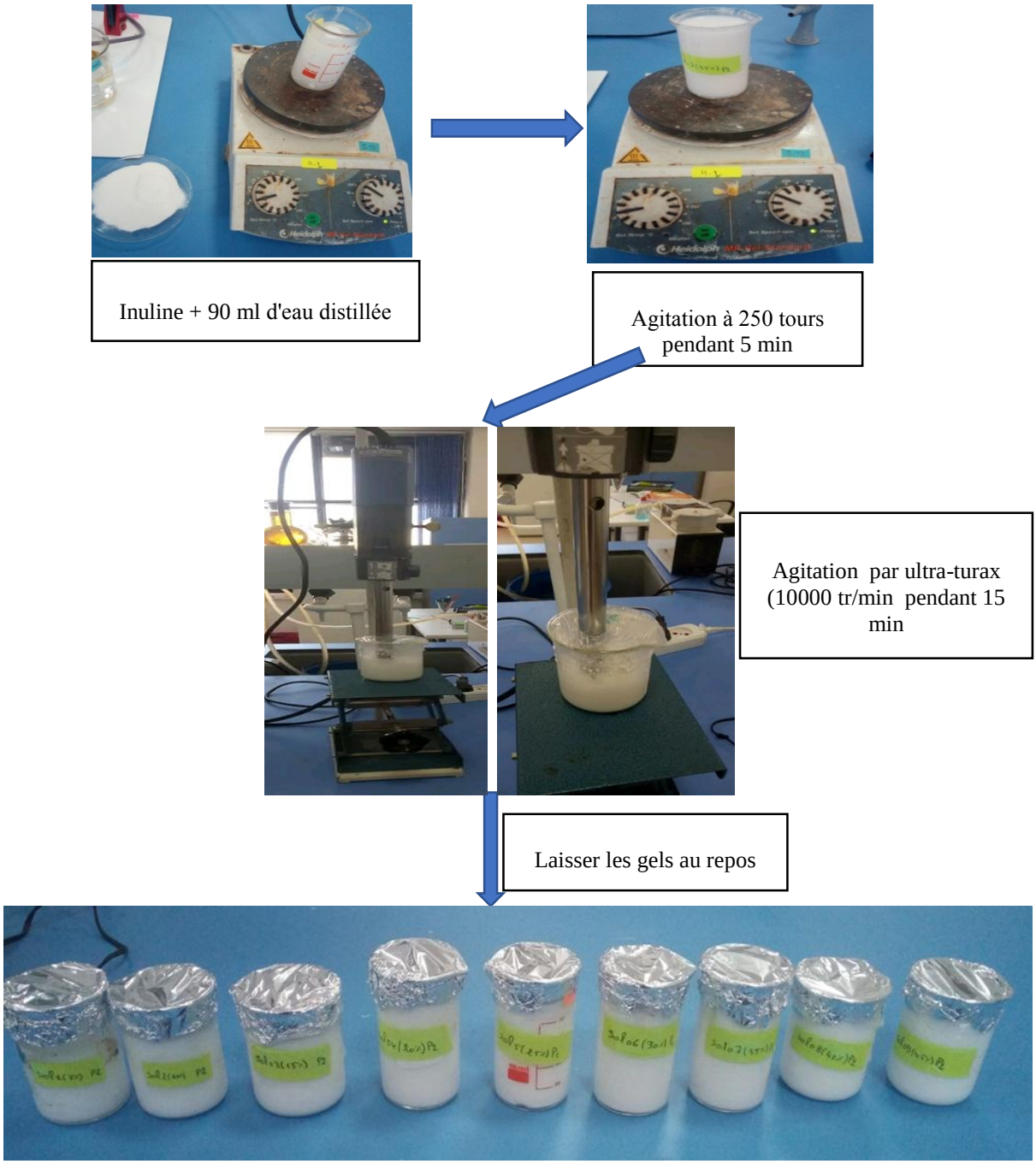


Figure IV.4: protocole 02 de préparation des gels de l'inuline

IV.3.2.3. Caractérisation des gels formés

- **Etude de la viscosité**

La viscosité apparente est mesurée à l'aide d'un viscosimètre à tige (les mobiles utilisés sont R2, R3, R5, R6) à des vitesses de rotation allant de 0.6 à 200 tr/min (Figure IV.5). Les échantillons sont préparés par les deux protocoles précédents. Les formulations obtenus sont laissés au repos 24h avant la mesure de viscosité**.**

Ces mesures ont été réalisées au niveau du laboratoire de recherche Matériaux et Environnement (LME), Pôle d'université de Médéa.

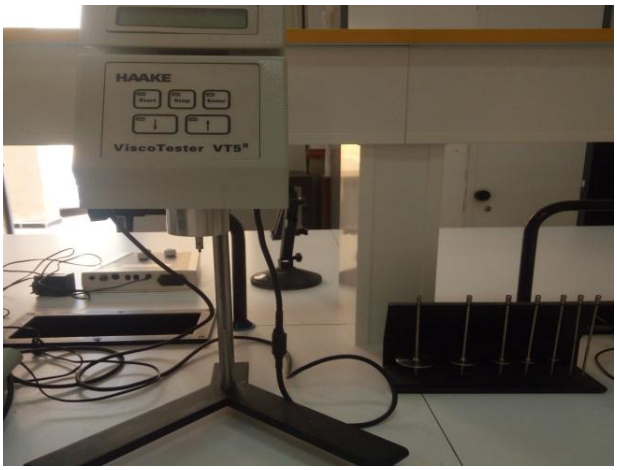


Figure IV.5 : viscosimètre à tige

- **Analyse microscopique**

L'examen microscopique a été réalisé à l'aide d'un microscope optique (Figure IV.6) au niveau du laboratoire de recherche Matériaux et Environnement (LME).

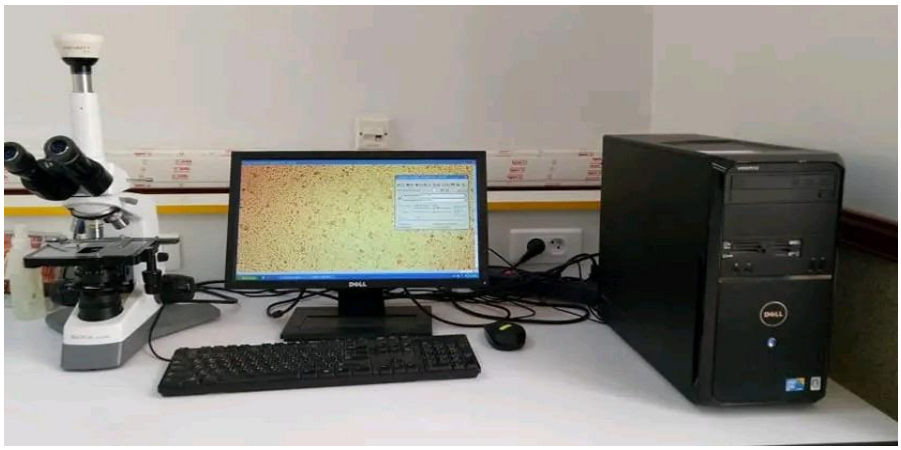


Figure IV.6: Microscope optique

L'examen est effectué sur les suspensions préparées précédemment en suivant les étapes citées ci-dessous:

- Prendre 1mL de gel et le faire disperser dans 10 mL d'eau distillée.
- Prendre une goutte de nouveau mélange et le placer entre lame et lamelle.
- Placer la lame sur le microscope avec un agrandissement de X10.
- Lecture

IV.4. Caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de Nigelle

Avant de commencer la caractérisation de l'huile végétale de nigelle, on doit éliminer les impuretés (fine particules de graine de nigelle qui passent dans l'huile au cours de pressage) par centrifugation de l'huile végétale à 3000 tr/min pendant 10 min. à la fin de centrifugation, on récupère le surnageant (huile purifiée) qui va être stocké dans des flacons propres et ambrés à la température de 4°C pour les utilisations ultérieures.



Figure IV.7: Purification de l'huile végétale de Nigelle.

Afin de déterminer les différentes caractéristiques physico-chimiques de l'huile de Nigelle, on utilise les méthodes identifiées par le recueil de norme de l'Association Française de Normalisation (AFNOR). **[58]**

IV.4.1. Caractérisation physique de l'HV

IV.4.1.1. Densité relative

La densité relative correspond au rapport entre la masse d'un volume donné de substance à 20°C et la masse d'un volume égal d'eau distillée à la même température. On la mesure à l'aide d'un pycnomètre (figure IV.8) et une balance analytique.

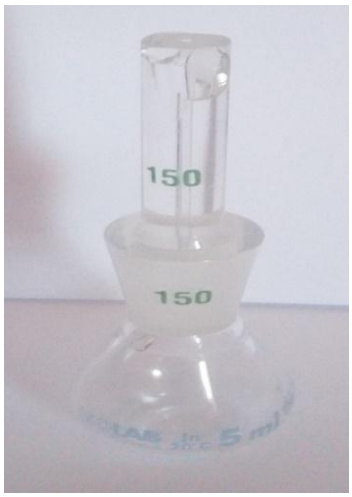


Figure IV.8: Pycnomètre

Protocole de mesure :

- ❖ Nettoyer attentivement le pycnomètre (figure IV.6) puis le sécher.
- ❖ Déterminer la masse $\mathbf{m_0}$ du pycnomètre vide.
- ❖ Verser de l'eau distillée dans le pycnomètre jusqu'à le trait de jauge.
- ❖ Déterminer la masse $\mathbf{m_1}$ de pycnomètre rempli d'eau distillée.
- ❖ Nettoyer et sécher le pycnomètre.
- ❖ Remplir le pycnomètre d'huile végétale jusqu'à trait de jauge.
- ❖ Déterminer la masse $\mathbf{m_2}$ de pycnomètre contenant l'huile végétale.

En utilisant l'équation (III.1) pour calculer la densité relative de l'huile végétale.

$$\boldsymbol{d = \frac{m_2 - m_0}{m_1 - m_0}} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(IV.2)}$$

Avec :

$\boldsymbol{m_0}$ *:* Masse (g) du pycnomètre vide.

$\mathbf{m_1}$: Masse (g) du pycnomètre rempli d'eau.

$\mathbf{m_2}$: Masse (g) du pycnomètre rempli d'HV.

IV.4.1.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'ondes déterminée passant de l'air à l'HV maintenue à une température constante. On mesure l'indice de réfraction à l'aide d'un refractomètre à la température ambiant puis ramené à 20℃.



Figure IV.9: Réfractomètre

Protocole de travail :

- Nettoyer la lame du réfractomètre (figure IV.9) en utilisant du papier absorbant.
- Etalonner l'appareil avec l'eau distillée.
- Mettre quelques gouttes d'HV à analyser dans la lame de réfractomètre et régler le cercle de chambre sombre et claire dans la moitié, et effectuer la lecture des résultats en prenant compte de la température du laboratoire 24.2°C.

L'indice de réfraction est calculé par la formule suivante :

$$n_D^{20} = n_D^T + 0.0004(T - 20) \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(IV.3)}$$

Avec :

$\boldsymbol{n_D^{20}}$**:** L'indice de réfraction à 20°C.

$\mathbf{n_D^T}$**:** L'indice de réfraction à la température de l'analyse.

T : la température de l'échantillon pendant l'analyse.

IV.4.2. Caractérisation chimique de l'HV

IV.4.2.1. Indice d'acide (I_A)

L'indice d'acide est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de potassium requise pour neutraliser les acides libres contenus dans 1g de la substance.

Mode opératoire

❖ Dissolvez 1g d'HV, dans 50 ml d'un mélange à volumes égaux d'éthanol et éther.

❖ Titrez le mélange avec la solution de KOH (0.1 M) en présence de phénophtaléine jusqu'au virage de coloration (rose persiste).

❖ Notez le volume de la solution de KOH versé.

L'indice d'acide est déterminé par l'expression suivante :

$$I_A = \frac{5.91 * n}{M} \quad \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(IV.4)}$$

Avec :

5.91 : Equivalent de KOH.

n : volume de KOH (ml).

M : masse d'HV (g).

IV.4.2.2. Indice de Saponification (Is)

L'indice de saponification est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité KOH nécessaire pour neutraliser les acides libres et à la saponification des esters contenus dans 1g d'une substance.



Figure IV.10: réfrigérant à reflux.

Mode opératoire

❖ Dans une fiole de 250 ml de verre munie d'un réfrigérant à reflux (figure IV.10), introduisez la prise d'essai (1g) d'huile végétale de Nigella sativa L. et Ajoutez 25mL d'Hydroxyde de potassium alcoolique (0.5 M) et quelque billes en verre.

- Adaptez le réfrigérant et chauffez à reflux pendant 30 min.
- Titrez immédiatement (alors que la solution est encore chaude) par l'acide Chlorhydrique 0.5M ($\mathbf{n_1}$ ml d'acide Chlorhydrique 0.5 M) en présence de phénophtaléine.
- Effectuez un essai à blanc dans les mêmes conditions ($\mathbf{n_2}$ ml d'acide Chlorhydrique 0.5M).

L'indice de saponification est déterminé à partir de cette formulation :

$$\mathbf{I_S} = \frac{\mathbf{28.05}*(\mathbf{n_2}-\mathbf{n_1})}{\mathbf{M}} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(IV.5).}$$

Avec :

$\mathbf{n_1}$: Volume de HCl nécessaire pour la neutralisation de l'échantillon (ml).

$\mathbf{n_2}$**:** Volume de HCl nécessaire pour la neutralisation de l'essai à blanc (ml).

M : Masse d'échantillon (g).

IV.4.2.3. Indice d'Ester (I_E)

C'est nombre qui exprime en milligrammes la quantité de KOH nécessaire pour saponifier les ester présents dans 1g d'une substance. On détermine l'indice d'ester à partir de l'indice de Saponification et l'indice d'Acidité.

$$\boldsymbol{I_E = I_S - I_A} \ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots\ldots \textit{(IV.6)}$$

IV.4.3. Caractérisation structurale par spectroscopie FTIR de l'HV

Une caractérisation par spectroscopie IR a été réalisée en mélangeant une goutte de HV avec du KBr. La pastille formée est placée dans le spectrophotomètre IR (on a utilisé le KBr à cause de l'absence des cellules de NaOH). Le spectre 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.

La caractérisation par spectroscopie FTIR de cette huile est réalisée au niveau du laboratoire d'analyses physico-chimiques du Pôle Universitaire d' Ouazra.

IV.5. Formulation d'une émulsion gélifiée à base de l'HV de nigelle

Cette partie a pour objectif la formulation d'une émulsion gélifiée stable. Cette dernière est composée trois constituants : l'huile végétale de Nigelle (phase huileuse), l'inuline et le Tween 80 (phase aqueuse).

IV.5.1. Plan d'expérience Box Benhken

L'optimisation de la formulation a été réalisée en utilisant le plan d'expérience de Box Benhken à trois facteurs (X_1, X_2, X_3), et à trois niveaux (-1, 0, +1). Les niveaux de chaque variable sont représentés dans le tableau IV.4.

Tableau IV.4 : Variables de plan Box Benhken.

Facteurs	**Abréviations**	**Niveaux**			**Unités**
		- 1	0	+ 1	
Huile de nigelle	X1	5	7.5	10	**%**
Tween 80	X2	0	1	2	**%**
Inuline	X3	10	17.5	25	**%**

L'estimation d'un modèle mathématique est souvent gérée par un outil informatique, dans notre cas, on utilise le logiciel MODDE 6. Deux réponses sont prises en considération: Indice de crémage et la conductivité de l'émulsion formée. Un ensemble de 15 formulations ont été générées à l'aide du plan factoriel Box Benhken. La matrice obtenue et représentée par le tableau IV.5.

Tableau IV.5 : Matrice des expériences.

Exp. Name	Run Order	huile végétale (%)	Tween 80 (%)	Inuline (%)	indice de crémage	Conductivité
F1	13	5	0	17,5		
F2	2	10	0	17,5		
F3	7	5	2	17,5		
F4	12	10	2	17,5		
F5	6	5	1	10		
F6	14	10	1	10		
F7	15	5	1	25		
F8	4	10	1	25		
F9	10	7,5	0	10		
F10	1	7,5	2	10		
F11	9	7,5	0	25		
F12	11	7,5	2	25		
F13	5	7,5	1	17,5		
F14	3	7,5	1	17,5		
F15	8	7,5	1	17,5		

IV.5.2. Préparation des émulgels

La préparation des émulsions gélifiées données par le tableau IV.5 passe par deux étapes principales :

Lors de la première étape, un gel d'inuline est préparé selon le protocole 2 cité dans la section IV.3.2.2. Par la suite une quantité bien précise de tensioactif Tween 80 est ajoutée au milieu réactionnel. Le mélange est porté sous agitation à 250 tr/min pendant 5 min pour assurer la solubilisation de toute la quantité de TA. Il faut noter que les quantités de l'inuline à faire disperser dans l'eau distillée diffèrent d'une formulation à une autre.

Au cours de la deuxième étape, l'huile végétale de nigelle est ajoutée au mélange précédant goutte à goutte tout en mélangeant à une vitesse modérée. L'émulsion est portée par la suite sous agitation rapide par ultra-turax à 10000 tr/min pendant 15min pour assurer l'homogénéisation des différents constituants

IV.5.3. Caractérisation des émulsions

IV.5.3.1. Mesure de la conductivité

Après la préparation des émulgels, on mesure directement la conductivité à l'aide d'un conductimètre (figure IV.11) pour déterminer le sens d'émulsion. Le protocole est le suivant:

- Une fois l'appareil est étalonné, on rince les électrodes avec l'eau distillée.
- Verser une quantité suffisante de l'échantillon (les émulgels préparés) dans le récipient de mesure.
- Introduire l'électrode dans cette émulgel.
- Lire la valeur de la conductivité sur l'écran de l'appareil.



Figure IV.11: Conductimètre

IV.5.3.2. Stabilité à centrifugation

La stabilité des émulsions gélifiée préparée est vérifiée en réalisant un test de stabilité accélérée. Il consiste à mettre les émulsions préparées sous une centrifugation à 3600 tr/min pendant 30min. À la fin de l'opération, si l'émulsion subit une séparation de phase, l'indice de crémage est calculé selon la formule ci-dessous **[57]** :

$$\boldsymbol{I_c}(\%) = \frac{\boldsymbol{H_{aq}}}{\boldsymbol{H_T}} * \mathbf{100} \quad \text{.....................................}(IV.7)$$

Avec:

I_c: L'indice de crémage;

H_{aq}: La hauteur de la phase aqueuse (la phase inférieure);

H_T: La hauteur totale de l'émulsion.

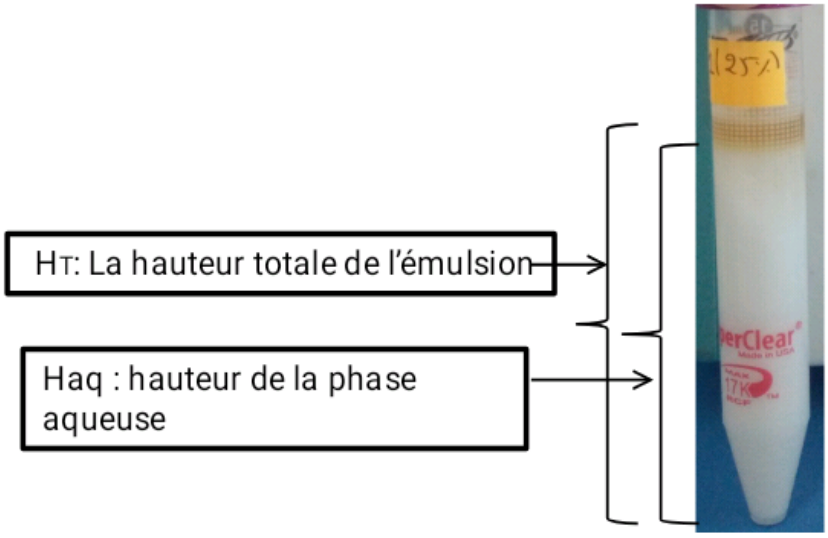


Figure IV.12 : Photo d'une émulsion présentant une séparation de phase.

IV.5.4. Caractérisation de la formule optimale

Après avoir eu la formule optimale de l'émulsion gélifiée, cette dernière va subir les caractérisations suivantes :

- Mesure de la conductivité : selon le protocole cité dans la section IV.5.3.1
- Contrôle de stabilité : selon la méthode citée dans le paragraphe IV.5.3.2
- le comportement rhéologique de l'émulgel ainsi que l'aspect microscopique sont réalisés selon la procédure citée dans la partie IV.3.2.3

L'une des informations que les scientifiques aimeraient établir est la susceptibilité d'une émulsion donnée à la coalescence des gouttelettes dans des conditions spécifiques par exemple, le temps de stockage, la température de stockage. Un certain nombre de contraintes environnementales qui peuvent être appliquées à une émulsion pour établir les performances d'un émulsifiant grâce à l'application d'un stockage prolongé.

De nombreuses émulsions doivent rester stables pendant des périodes relativement longues avant qu'ils ne soient utilisés. La résistance des émulsions au stockage à long terme peut être évaluée en les gardant dans un endroit à température contrôlée et à lumière contrôlée pendant une période déterminée puis testant leurs propriétés. Les conditions précises utilisées dépendront de la durée de conservation prévue et des conditions de stockage du produit. **[59]**

En plus des contrôles cités précédemment, un test de stabilité physique et microbiologique au cours de stockage a été réalisé, en suivant les étapes ci-dessous :

La formule optimale est transférée dans deux tubes à essai en verre. Les deux tubes ont été conservés pendant 30 jours à deux températures différentes : le premier est gardé à la température ambiante et le deuxième est conservé à basse température (4°C). Au cours de stockage, on vérifié s'il existe une séparation de phase, le développement des colonies de Microorganismes ou changement de couleur comme signe de dégradation.

Chapitre V :

Résultats et discussion

Chapitre V : Résultats et discussion

Lors du chapitre précédent, on a présenté toutes les méthodes appliquées dans la réalisation de cette étude expérimentale. Ce chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi que toutes les interprétations concernant les trois parties de cette étude:

- Caractérisation de l'inuline HPX
- Caractérisation physico-chimique et spectroscopique de l'huile de Nigelle cultivée.
- Formulation d'une émulsion gélifiée à base de l'huile de Nigelle.

V.1. Caractérisation de l'inuline

V.1.1. Taux d'humidité

Le taux d'humidité de l'inuline est calculé selon l'équation IV.1 citée dans le chapitre précédent. Le taux humidité de l'inuline est de 0.3%, cela signifié que notre polymère est bien conservée et dans un bon état.

V.1.2. Caractérisation par spectroscopie FTIR

La spectroscopie infrarouge est une méthode très utilisée pour l'analyse qualitative des matières organiques. Elle joue un rôle très important dans la caractérisation et l'identification des groupements fonctionnels des composés. Le spectre IR obtenu est représenté par la figure V.1.

D'après la figure V.1, le spectre FTIR de l'inuline HPX utilisé présente les caractéristiques suivantes:

- ✓ Une bande intense à 3363.97cm^{-1} qui est attribuée à la vibration de valence des groupements hydroxydes –OH du polysaccharide.
- ✓ Une bande à 2931.90 cm^{-1} qui est due à la vibration d'élongation CH du CH_2.
- ✓ Des pics dans la région de 1500 cm^{-1} et 1200 cm^{-1} ont été assignés à la vibration de déformation de CH.
- ✓ Des pics entre 1133 cm^{-1} et 1033.80 cm^{-1} correspondent aux vibrations d'élongation CH du CH_2.

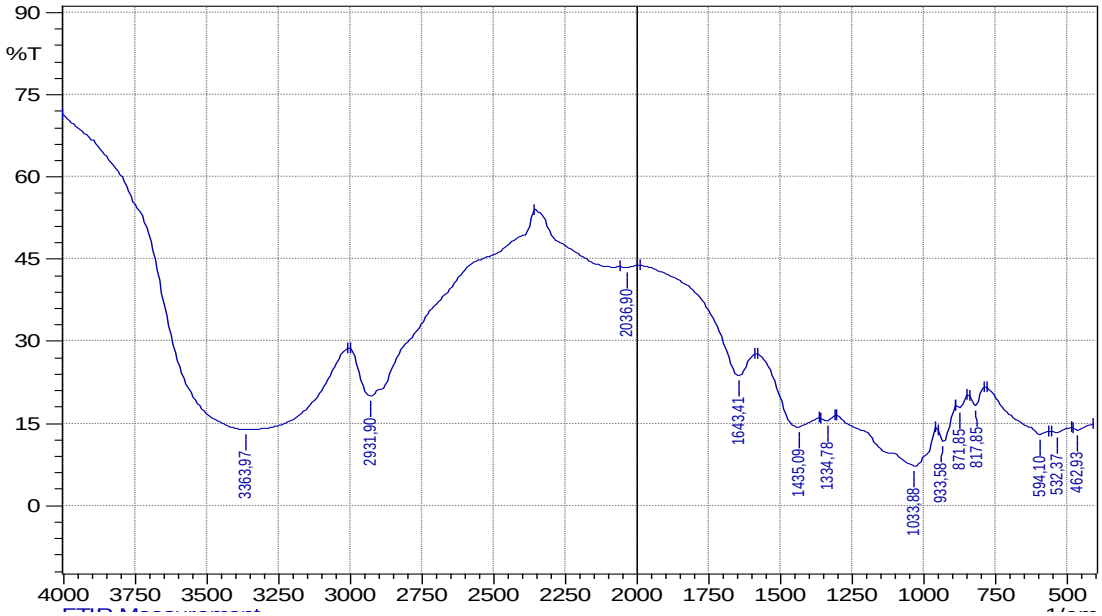


Figure V.1: Spectre FTIR de l'inuline HPX.

V.1.3. Formation et Caractérisation des gels à base d'inuline

L'objectif de cette partie est de déterminer les concentrations nécessaires pour avoir un gel d'inuline. Pour cela, deux protocoles sont pris en considération pour préparer ces gels, les résultats obtenus discutés ci-dessous.

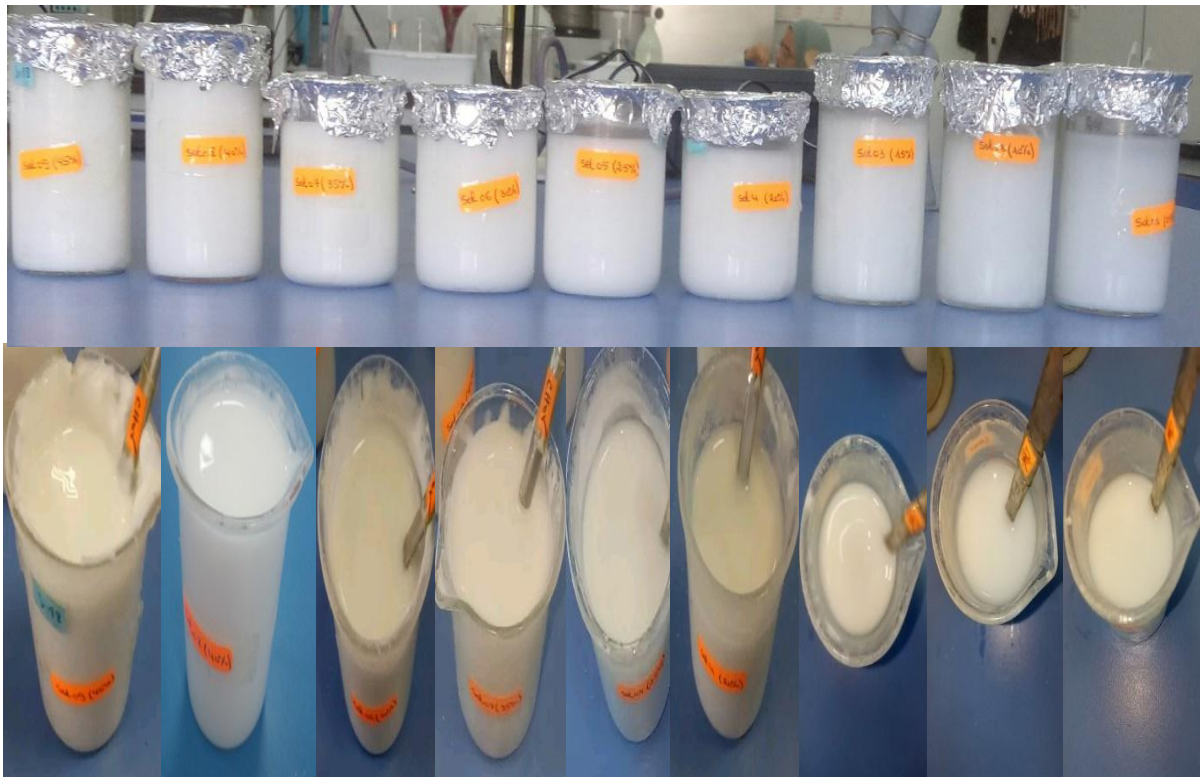
V.1.3.1. Test visuel

Les suspensions d'inuline obtenues et préparés selon le Protocole 1 sont représentées sur la figure V.2. L'examen macroscopique montrent que :

- ✓ Les suspensions préparées de concentrations (5, 10, 15, et 20%) sont sédimentés après une nuit de repos.
- ✓ Les suspensions préparées de concentrations (25, 30, 35, et 40%) forment des gels.
- ✓ La suspension préparée de concentration 45% forme un gel visqueux de forte consistance.

Le test visuel des gels d'inuline obtenus en suivant le Protocole 2 (figure V.3) montre que :

- ✓ La suspension préparée de concentration 5% s'est sédimentée après une nuit de repos
- ✓ Les suspensions préparées de concentrations (10, 15, 20, et 25%) forment des gels.
- ✓ Les suspensions préparées de concentrations (30, 35, 40, et 45%) forment des gels visqueux d'une forte consistance.



45% 40% 35% 30% 25% 20% 15% 10% 5%

Figure V.2 : Suspensions d'inulines formées en utilisant le Protocole 01.



5% 10% 15% 20% 25% 30% 35% 40% 45%

Figure V.3 : Gels d'inulines formées en utilisant le Protocole 02.

La concentration, le chauffage, ainsi que le pH sont les facteurs essentiels influençant la formation des gels à base d'inuline. Selon Karim et al**.[60]**, une concentration entre 20-30% en inuline (p/v), un pH compris entre 6-8 et un chauffage initial de solution à 80-90 °C pendant 2-3 min sont les meilleures conditions pour la formation des gels à base d'inuline. Ils ont mentionné qu'une concentration minimale critique (C_{min}) est nécessaire pour avoir la formation de gel. Il y a aussi une influence évidente des paramètres de cisaillement et le type de dispositif de cisaillement utilisé, c'est-à-dire les forces appliquées, sur le C_{min} pour une gélification complète. Lorsque l'application des forces de cisaillement a été augmentée par un Rotor-Stator, la C_{min} pour la formation de gel a diminué. Ces auteurs ont déterminé que pour un cisaillement élevé (5000 tr/min pendant 5 min), la C_{min} est de 15 % (p/v). L'effet a été attribué à la réduction de la taille des particules et peut être particulièrement liées à la décomposition de certains amas d'inuline produits au cours de solvation de l'inuline dans l'eau**[61],[62].**

Dans notre étude, les concentrations minimales critiques (C_{min}) trouvées par les deux protocoles sont 25% pour le premier protocole (agitation simple) et 10% pour le protocole 2 (agitation par Ultra-turax). Cela signifié qu'une grande vitesse d'agitation (10000 tr/min) favorise la formation rapide des gels à faibles concentrations en inuline à cause de la réduction de la taille des particules cristalline d'inuline et l'augmentation de leurs taux de rétention en eau. Dans ce qui suit, on utilisera le 2ème protocole pour la formulation des émulsions.

V.1.3.2. Etude viscosimétrique

Les résultats de la variation de la viscosité des formulations préparées par les deux protocoles en fonction de la vitesse de rotation sont donnés par les Figures V.4, V.5 et V.6, respectivement. Les graphes montrent que la viscosité apparente diminue en fonction de la vitesse de rotation. D'autre part, les résultats montrent que la viscosité apparente augmente avec l'augmentation de la concentration des gels.

Les formulations obtenues par protocole 01 présentent une viscosité apparente nettement plus faible que celle présentée par protocole 02 (figure V.6). Cela signifie que l'agitation à grande vitesse a influencé positivement sur la viscosité et le comportement rhéologique de gels préparés.

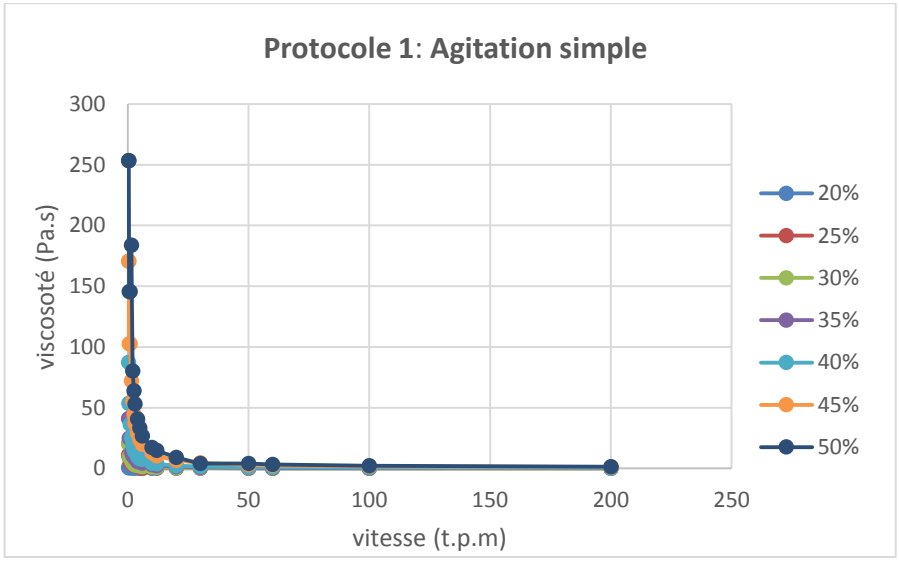


Figure V.4: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations de protocole 1.

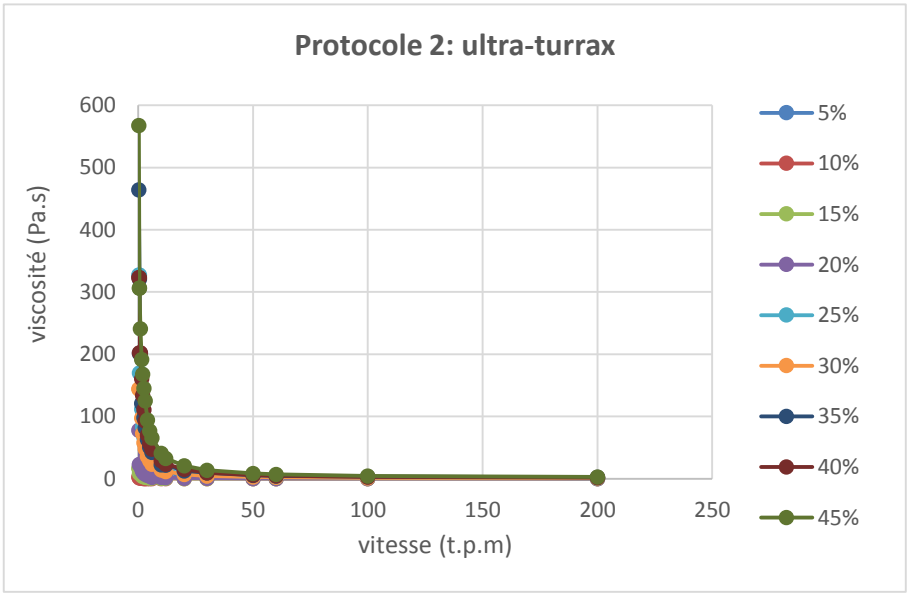


Figure V.5: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement des formulations de protocole 02.

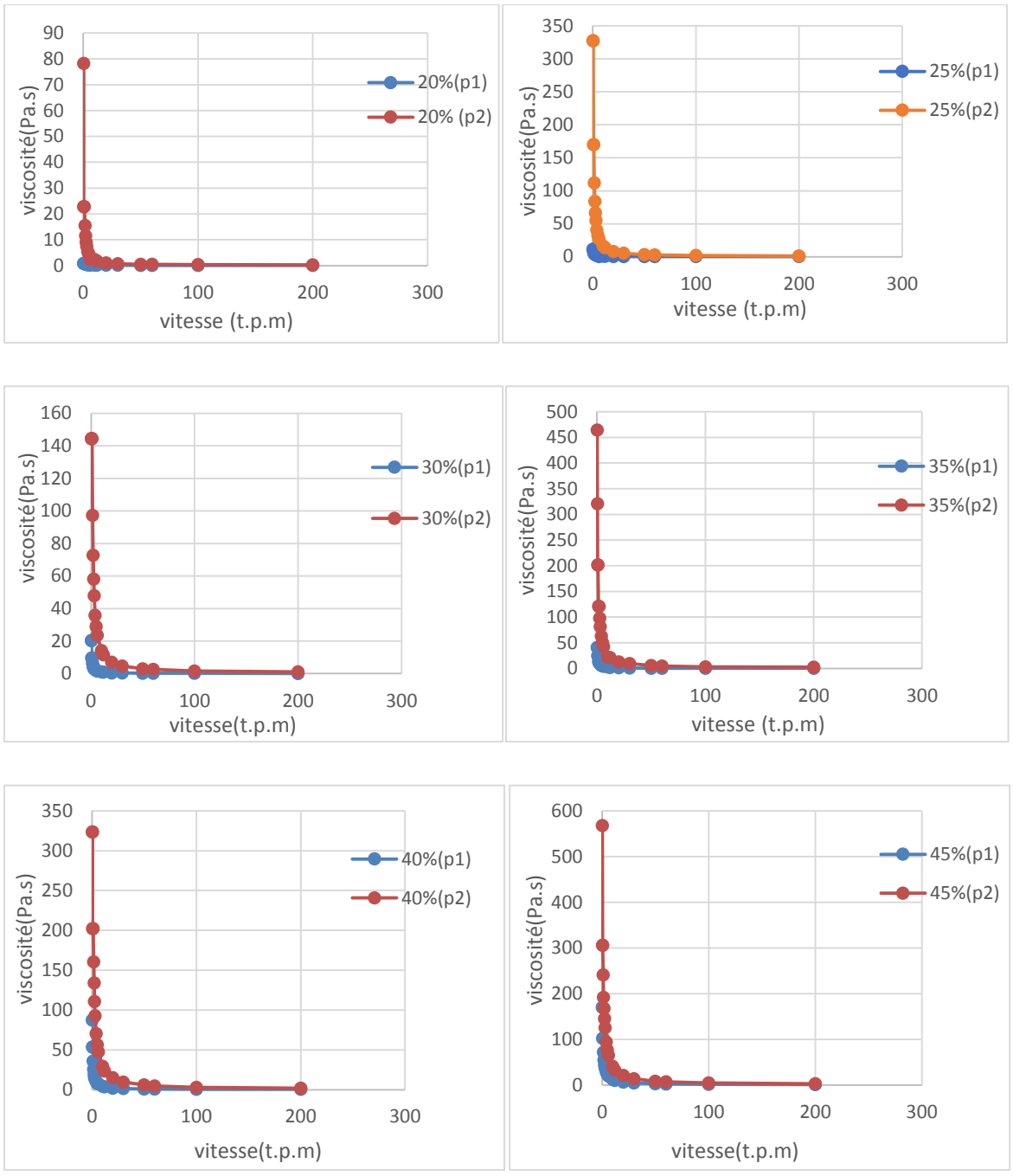


Figure V.6: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de chaque Formulation pour les deux protocoles 01et 02.

V.1.3.3. Examen microscopique

L'examen microscopique, des différentes suspensions et gels d'inuline formés par les deux protocoles, est réalisé en utilisant un microscope optique avec un agrandissement de 10). Les résultats obtenus sont indiqués sur les figures V.7 et V.8.

L'analyse microscopique montre que les formulations de concentrations (25%, 30%, 35%, 40%), préparées selon le protocole 1 (figure V.7), sont plus homogènes et de même taille alors que les autres formulations sont hétérogènes et de taille différent**s**.

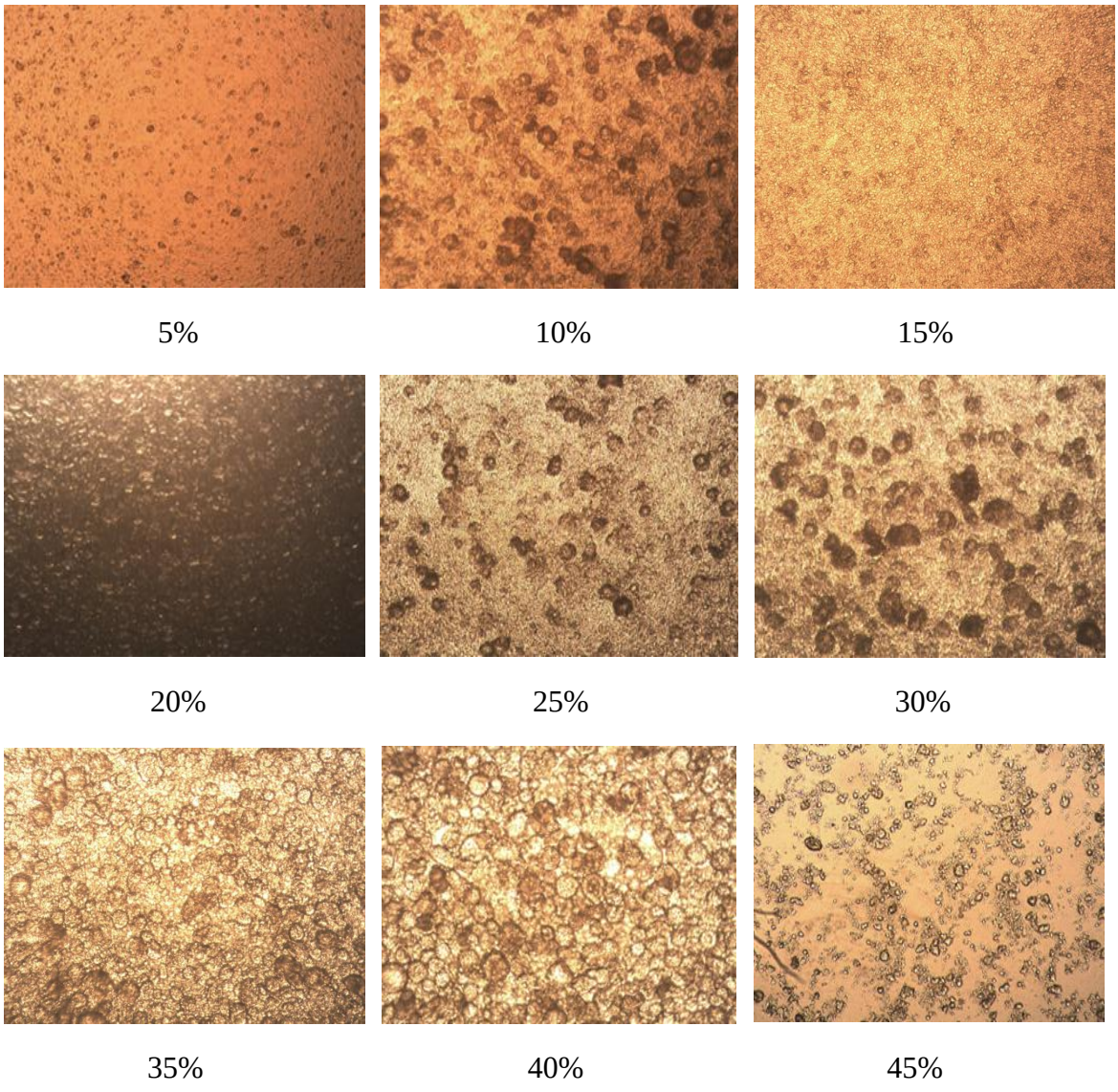


Figure V.7: Vues microscopes des formulations préparées par le protocole 01.

L'analyse microscopique, des gels d'inuline formés par le Protocole 2 (figure V.8) à un agrandissement de 10, indique que les formulations de concentrations (10%, 15%, 20%, 25%) présente une texture similaire à celle des émulsions l'huile dans l'eau, dont les globules formés sont homogène et de même taille, c'est la raison pour laquelle l'inuline est très utilisée en industrie agroalimentaire pour remplacer les graisses dans les différentes préparations (lait, margarine, sauces, biscuit, mayonnaise…). La taille homogène des particules de l'inuline dans l'eau revient principalement à la grande vitesse d'agitation qui participe à la réduction de la taille des particules d'inuline et la décomposition de certains amas de celle-ci.

Dans les autres formulations, les particules sont hétérogènes et de taille différents à cause de la saturation du milieu en inuline.

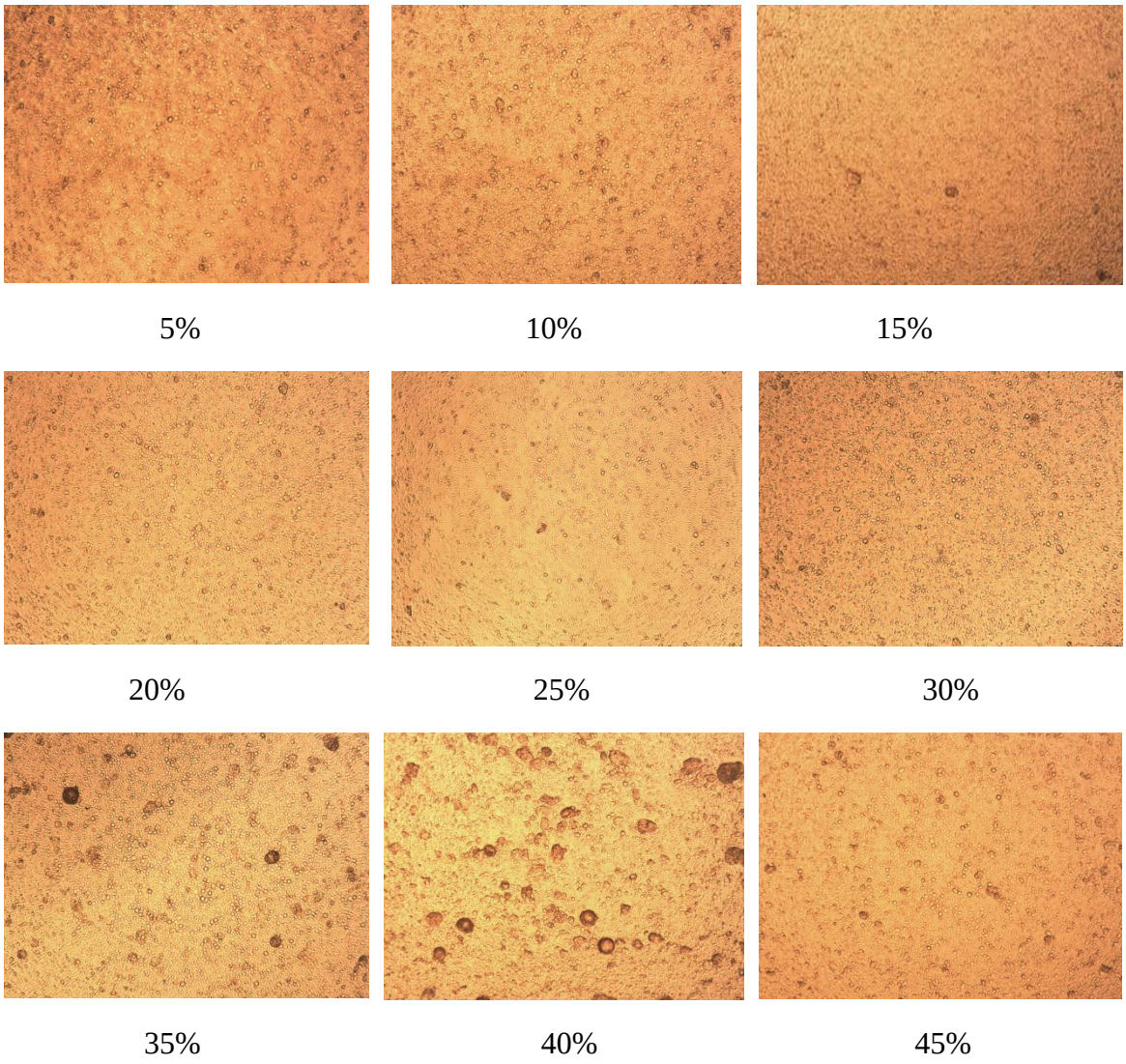


Figure V.8: Vues microscopes des formulations préparées par le protocole 02.

V.2. Caractérisation de l'HV

Tout d'abord, nous faisons une centrifugation de l'HN pour éliminer toutes les impuretés solides restant dans l'huile obtenue après la pression à froid (figure V.9).

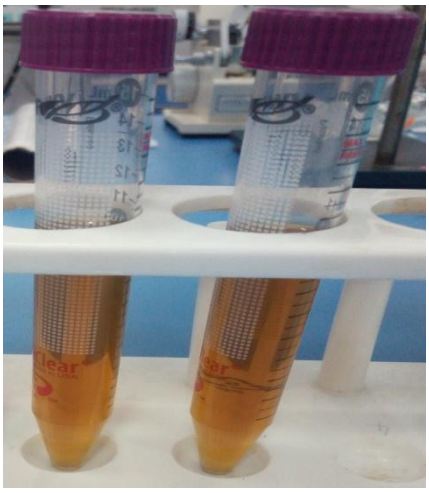


Figure V.9: HN après la centrifugation.

V.2.1. Caractérisation organoleptique de l'HV

L'huile végétale de Nigelle est originaire de la région de la Syrie obtenue par pression à froid des graines de nigelle (Nigella *Sativa L)*. le liquide obtenu d'un aspect visqueux, de couleur jaune à brun avec une forte odeur. Le tableau V.1 ci-dessous indique les propriétés organoleptiques de cette huile.

Tableau V. 1 : Propriétés organoleptiques d'huile végétale de la Nigelle cultivée.

Aspect	Liquide huileux
Couleur	Jaune à brun
Odeur	A une odeur forte caractéristique de Nigelle

V.2.2. Caractérisation physico-chimique de l'HV

La vérification et de contrôle de la qualité de l'huile végétale étudiée (huile de nigelle) dépendent des caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques de cette huile:

- La détermination de la densité de l'huile de Nigelle permet de contrôler la pureté de cette huile. La densité de notre huile mesurée est de 0.919, et elle est très proche de celle trouvée par Atta. **[63]**

- ✓ m_0=15,05g (Masse (g) du pycnomètre vide).
- ✓ m_1=20,47g (Masse (g) du pycnomètre rempli d'eau).
- ✓ m_2=20.03g (Masse (g) du pycnomètre rempli d'HV).

$$\mathbf{d_{20} = \frac{20.03-15.05}{20.47-15.05} = 0.919}$$

- L'indice de réfraction dépend de la pureté du produit. Plus de l'indice de réfraction d'un produit est près de la valeur normale, plus sa pureté est grande. L'Indice de réfraction de notre huile à 20 °C est de 1.4726 (figure V.10) et il est proche à celui d'Atta. **[60]**
  - ✓ T = 24 °C (la température de l'échantillon pendant l'analyse).
  - ✓ N_D^T =1,4710 (L'indice de réfraction à la température de l'analyse).

$$N_D^{20} = 1.4710 + 0.0004\ (24 - 20)$$

Donc : **N_D^{20}=1,4726** (L'indice de réfraction à 20°C)

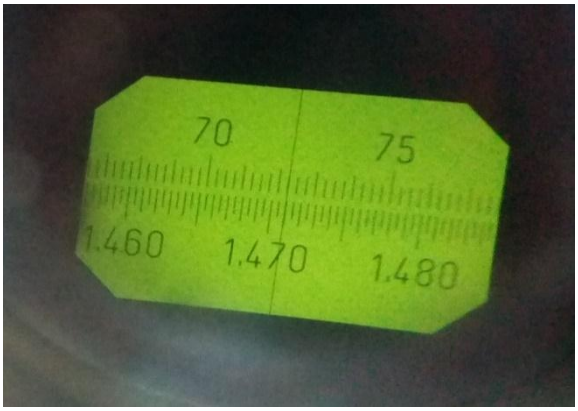


Figure V.10: Détermination d'indice de réfraction.

- L'indice d'acide de l'HN mesuré (figure V.11) est de 18.267 mg KOH/g HV
  - ✓ n =3.4 ml (volume de KOH (ml).
  - ✓ M =1.1 g (masses d'HV (g)

$$I_A = \frac{5.91 \times 3.4}{1.1} = 18.267$$

- L'indice de saponification (I_S) de l'HN mesuré est de 193.545. Il est calculé selon l'équation ci-dessous
  - ✓ n_1=15.3 mL (Volume de HCl nécessaire pour la neutralisation de l'échantillon).

- ✓ n_2=22.2 mL (Volume de HCl nécessaire pour la neutralisation de l'essai à blanc.
- ✓ M=1g Masse d'échantillon (g).

$$\mathbf{I_S = \frac{28.05 \times (22.2 - 15.3)}{1} = 193.545}$$

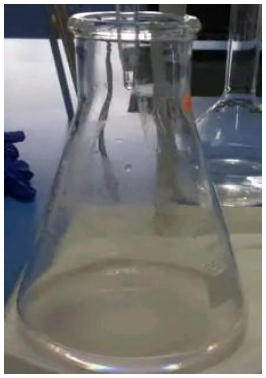


Avant le titrage



Après le titrage

Figure V.11: Détermination d'indice d'acide (apparition de la coloration rose).



Avant titrage





Après titrage

Figure V.12: Détermination de l'indice de saponification.

- ➢ Indice d'Ester (I_E) de l'HN mesuré est de 175.278, il est calculé par l'équation IV.6 citée dans la section VI.4.2.3.

$$\mathbf{I_E = 193.545\text{-}19.879 = 175.278}$$

Les résultats de mesure de densité, l'indice de réfraction, l'indice d'acide, l'indice de saponification, l'indice d'ester sont regroupés dans le tableau V.2 et comparés avec ceux trouvés par Atta:

Tableau V. 2 : Résultats de la caractérisation physico-chimique de l'HN.

			Résultats	Normes **[63]**
HV de Nigelle	Caractéristiques Physiques	Indice de réfraction	1,4726	1,4732
		Densité	0,919	0,9110
	Caractéristiques Chimique	Indice d'acide	18.267	11 (% d'acide oléique)
		Indice de saponification	193,545	192 ± 2
		Indice d'ester	175,278	/

V.2.3. Caractérisation par spectroscopie FTIR:

La spectroscopie infrarouge est une méthode très utilisée pour l'analyse qualitative des matières organiques. Elle joue un rôle très important dans la caractérisation et l'identification des groupements fonctionnels des composés.

Le spectre IR de l'HN obtenu est représenté dans la figure V.13:

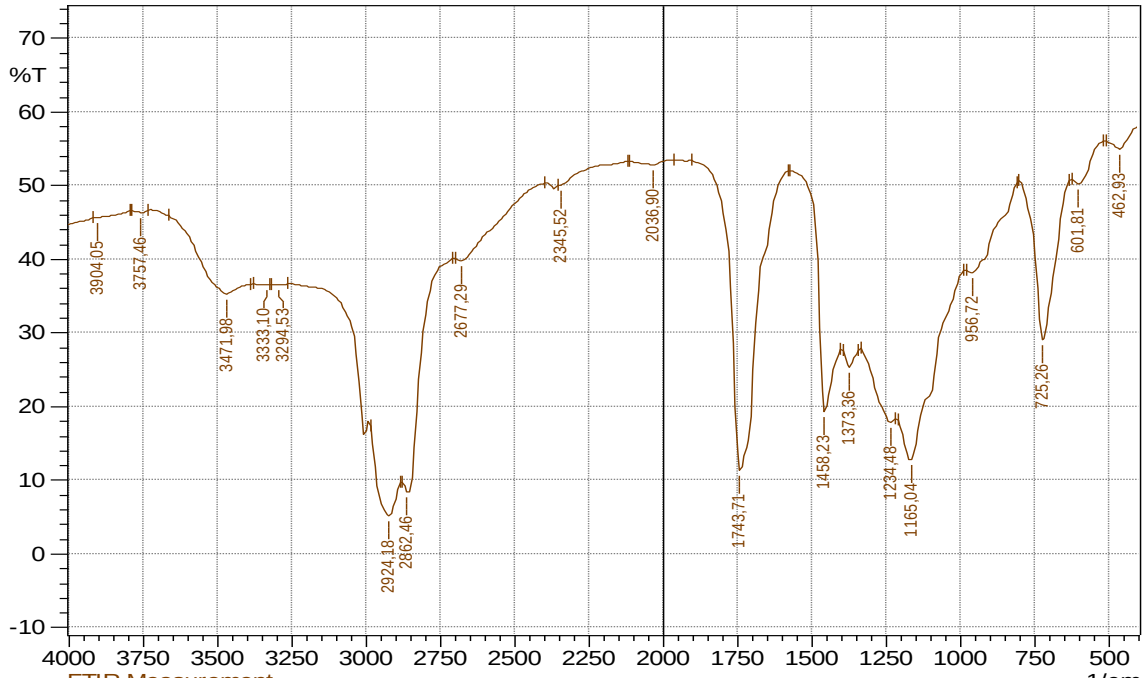


Figure V.13: Spectre FTIR de l'huile végétale de nigelle cultivée.

D'après la figure V.13, le spectre FTIR de l'HV de nigelle cultivée utilisé présente les caractéristiques suivantes:

- ✓ Une large bande d'absorption à 3471.98 cm^{-1} qui est attribuée à la vibration –OH de la fonction carboxylique (R-COOH).
- ✓ les bandes à 2924.18 et 2862.46 cm^{-1} ont été attribuées aux vibrations de la liaison C–H des groupes d'alcane CH_2 et CH_3 respectivement.
- ✓ Un pic intense à 1743.71cm^{-1} attribuée à la vibration de la liaison carbonyle (C=O).
- ✓ la bande à 1658.84 cm^{-1} a été affectée à la vibration de la liaison du C=C,
- ✓ les bandes à 879.57 et 725.26 cm_{-1} correspondant au mode vibrationnel du cycle aromatique.

V.3. Formulation d'une émulsion gélifiée à base de l'huile de Nigelle

V.3.1. Préparation des émulgels

L'objectif de cette partie est de formuler une émulsion stable à base de l'huile végétale de nigelle et de l'inuline en utilisant le Tween 80 comme émulsifiant. L'optimisation de la formulation est décrite en détail dans le chapitre précédent (sections IV.5.1 et IV.5.2). Les différentes formules préparées (volume de 80 mL) sont représentées sur le tableau V.3.

Tableau V.3: Les différents constituants des émulgels formulées.

Exp. Name	HV		Tween 80		Gel d'inuline	
	% g/g	V (ml)	% g/g	V (ml)	% g/g	V (ml)
F1	5	5	0	0	17.5	75
F2	10	10	0	0	17.5	70
F3	5	5	2	2	17.5	73
F4	10	10	2	2	17.5	68
F5	5	5	1	1	10	74
F6	10	10	1	1	10	69
F7	5	5	1	1	25	74
F8	10	10	1	1	25	69
F9	7,5	7.5	0	0	10	72.5
F10	7,5	7.5	2	2	10	70.5
F11	7,5	7.5	0	0	25	72.5
F12	7,5	7.5	2	2	25	70.5
F13	7,5	7.5	1	1	17.5	71.5
F14	7,5	7.5	1	1	17.5	71.5
F15	7,5	7.5	1	1	17.5	71.5

V.3.2. Analyse Statistique

La matrice d'expériences de formulation ainsi que les résultats obtenus sont donnés dans le Tableau V.4.

Tableau V.4 : Résultats de formulation par Plan Box-Behnken.

	Combinaison des facteurs à différents niveaux			Les réponses	
Formulation	huile végétale (%)	Tween 80 (%)	Inuline (%)	indice de crémage	conductivité
F1	5	0	17,5	95,4	1,02
F2	10	0	17,5	89,7	1,47
F3	5	2	17,5	0	2,3
F4	10	2	17,5	0	3,36
F5	5	1	10	0	1,58
F6	10	1	10	0	2,63
F7	5	1	25	0	3,38
F8	10	1	25	0	3,26
F9	7,5	0	10	74,4	2,54
F10	7,5	2	10	0	2,59
F11	7,5	0	25	93,1	1,53
F12	7,5	2	25	0	3,68
F13	7,5	1	17,5	0	3,5
F14	7,5	1	17,5	0	3,22
F15	7,5	1	17,5	0	3,53

Le tracé récapitulative des résultats traités par la méthode de régression linéaire (MLR) est représenté par la figure V.14 et le tableau V.5.

Pour l'indice de crémage, le coefficient de corrélation R^2 est égale à 0.99625, la valeur du coefficient de détermination ajustée est de R^2 ajustée = 0.989499 et la valeur de reproductibilité est de 1. Ces résultats confirment que le Coefficient d'ajustement et la reproductibilité du modèle est meilleur.

Pour la conductivité, le coefficient de corrélation R^2 est égale à 0.916483 et la valeur du coefficient de détermination ajustée est de R^2 ajustée = 0.766152, la valeur de reproductibilité est de 0.962374 et la validité du modèle est 0.410605. Lorsque la barre de validité du modèle est supérieure à 0,25, il n'y a pas de manque d'ajustement du modèle. Ces résultats confirment que la validité du modèle est parfaite.

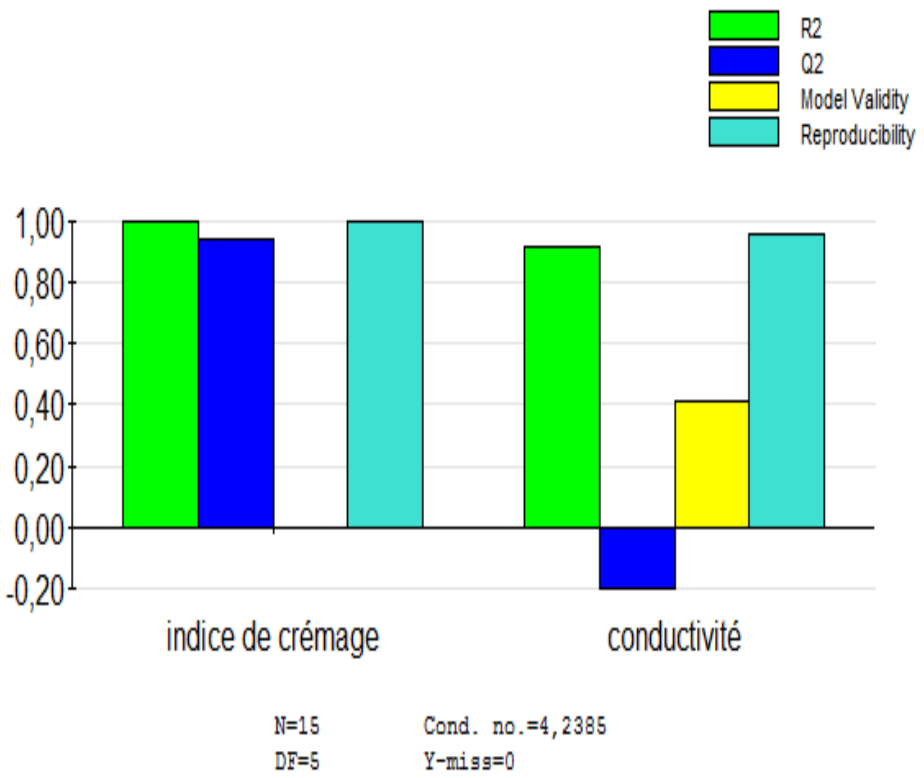


Figure V.14: Tracé récapitulative des résultats.

Tableau V.5 : Tracé récapitulative des résultats.

	R^2	R^2 Adj.	Q^2	Validité du modèle	reproductibilité
Indice de crémage	0.99625	0.989499	0.939992	--	1
Conductivité	0.916483	0.766152	-0.262369	0.410605	0.962374

Analyse de variance ANOVA

Les graphes comparent l'écart type de la régression (modèle) à l'écart type des résidus, le bruit. Avec de bons modèles, la première barre, l'écart type de la régression, devrait être beaucoup plus grande que la troisième barre, l'écart type des résidus avec son niveau de confiance supérieur. Le graphique Anova donne les mêmes informations que le R^2 ajusté. Pour l'indice de crémage, L'erreur de la régression est nulle (P = 0) et RSD est

très petite. Alors Anova de ce modèle est bon, reproductible et valide (figure V.15 et tableau V.6)

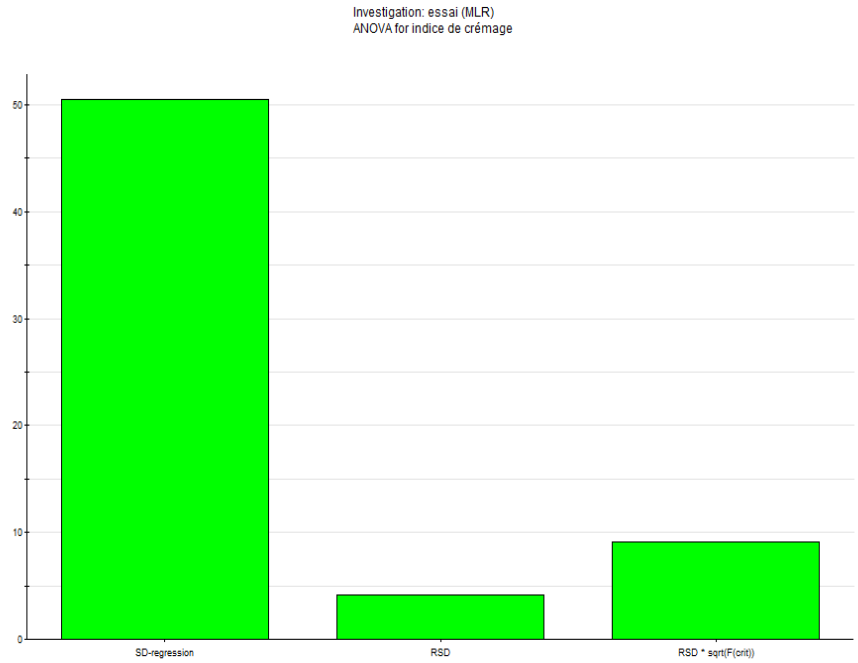


Figure V.15 : analyse de variance Anova pour l'indice de crémage

Tableau V.6 : Résultats de l'ANOVA pour l'indice de crémage.

indice de crémage	DF	SS	MS	F	p	SD
			(variance)			
Total	15	31350.2	2090.01			
Constant	1	8288.45	8288.45			
Total corrigé	14	23061.8	1647.27			40.5866
Régression	9	22975.3	2552.81	147.574	**0.000**	50.5253
Résidual	5	86.4924	17.2985			4.15914
Manque d'ajustement	3	86.4924	28.8308	--	--	5.36943
(Erreur de modèle)						
Erreur pure	2	0	0			--
(Erreur de réplication)						
N = 15	Q^2 = 0.940		Cond. no. = 4.2385			
DF = 5	R^2 = 0.996		Y-miss = 0			
	R^2 $_{Adj.}$ = 0.989		RSD = 4.1591			

Dans le cas de la 2ème réponse (la conductivité), L'erreur de la régression est 0.03 (inférieur à 0.05), RSD et manque d'ajustement est grand. Alors Anova de ce modèle est médiocre et mauvais (figure V.16 et Tableau V.7)

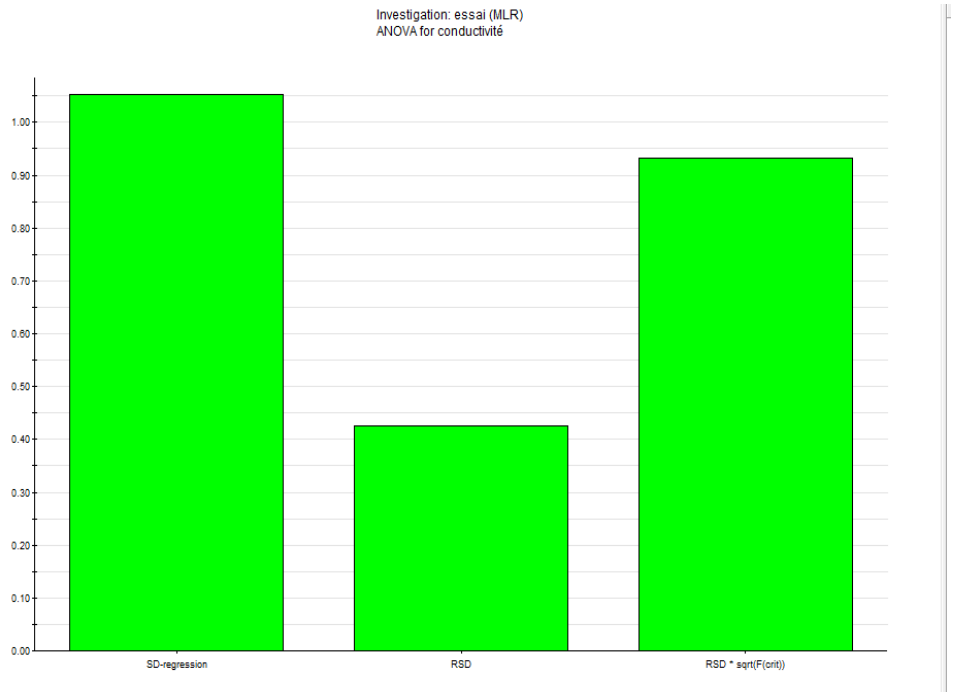


Figure V.16 : Analyse de variance Anova pour la conductivité.

Tableau V.7 : Résultats de l'ANOVA pour la conductivité.

Conductivité	DF	SS	MS	F	p	SD
			(variance)			
Total	15	115.369	7.69123			
Constant	1	104.491	104.491			
Total corrigé	14	10.8773	0.776949			0.881447
Régression	9	9.96885	1.10765	6.09643	**0.030**	1.05245
Résidual	5	0.908442	0.181688			0.426249
Manque d'ajustement	3	0.849975	0.283325	9.69185	**0.095**	0.532283
(Erreur de modèle)						
Erreur pure	2	0.0584667	0.0292333			0.170978
(Erreur de réplication)						
N = 15	Q^2 = - 0.262		Cond. no. = 4.2385			
DF = 5	R^2 = 0.916		Y-miss = 0			
	R^2 Adj. = 0.766		RSD = 0.4262			

Equations du modèle

Le calcul des paramètres polynomiaux du modèle est effectué par la méthode de régression linéaire (MLR), les équations du modèles obtenues sont données par les équations V.1 et V.2 :

$$y_1 = 6.564 * 10^{-6} - 0.712X_1 - 44.075X_2 + 2.337X_3 + 1.424\,X_1X_2 + 1.025 * 10^{-7}X_1X_3 - 4.675X_2X_3 + 2.199X_1^2 + 44.075X_2^2 - 2.2X_3^2 \quad \text{.....V.1}$$

$$y_2 = 3.416 + 0.305X_1 + 0.671X_2 + 0.313X_3 + 0.152\,X_1X_2 - 0.292X_1X_3 + 0.525X_2X_3 + 0.625X_1^2 + 0.753X_2^2 - 0.078X_3^2 \quad \text{.....V.2}$$

Une valeur positive des coefficients de l'équation représente un effet qui favorise l'optimisation, par contre une valeur négative indique une relation inverse entre la réponse et le facteur. D'après le diagramme qui représente l'effet des facteurs sur les réponses (figure V.17), il est clair que les trois facteurs n'ont pas le même effet sur les réponses. X_1 présente un effet positif sur Y_2 et son effet est négligeable sur Y_1, X_2 possède un effet négatif sur Y_1 et un effet positif sur Y_2 tandis que X_3 possède un effet positif sur les deux réponses Y_1 et Y_2.

L'effet de X_2 sur Y_1 et dix-neuf fois supérieur à celui de X_3 et presque soixante-deux fois supérieur à celui de X_1. Dans le cas de la conductivité (Y_2), l'effet de X_2 est deux fois celui de X_1 et X_3. Cela signifié que le Tween 80 a un effet majeur sur l'indice de crémage et la conductivité.

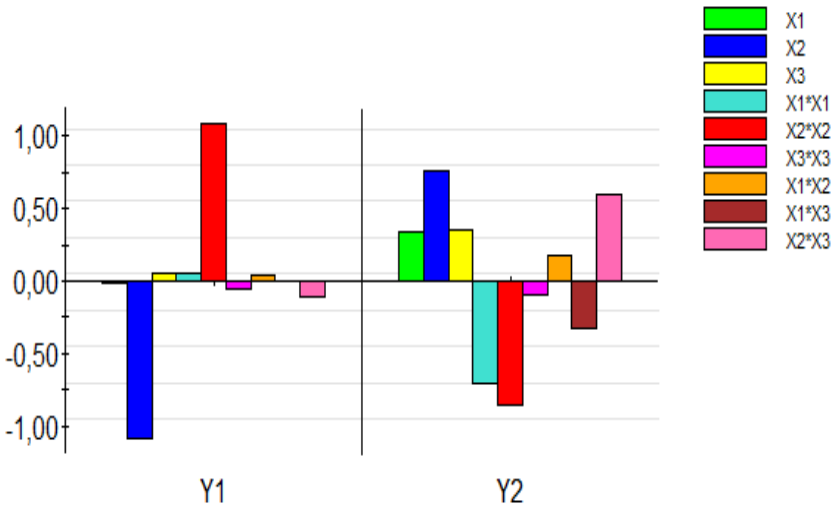


Figure V.17 : Effets des facteurs sur les réponses.

Dans le cas de l'indice de crémage, l'effet des interactions entre les différents facteurs est négligeable devant l'effet quadratique de X_2. Tandis que l'interaction entre X_1 et X_2, ainsi que X_2 et X_3 affecte positivement Y_2 contrairement à l'interaction X_1 et X_3 qui influence négativement sur Y_2.

La qualité des modèles trouvés est liée aux coefficients de variance R^2 calculés par le Logiciel Modde 6, Les courbes de corrélation linéaire entre les réponses observées et prédites donnent des coefficients de corrélation élevés (R^2 = 0.996 pour Y_1 et R^2 = 0.916 pour Y_2). Ce qui indique de bonnes corrélations entre les valeurs prédites par le modèle et celles expérimentales.

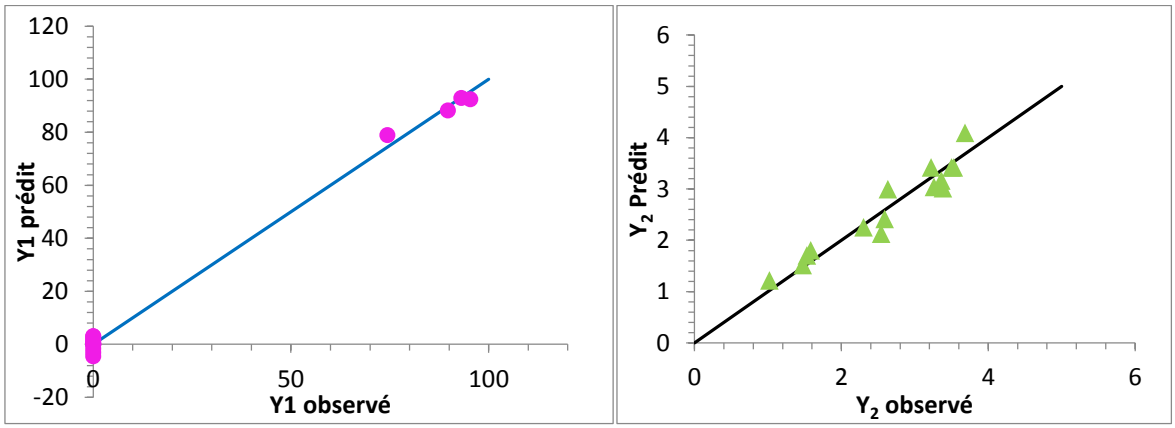


Figure V.18 : Courbes de corrélation linéaire entre les valeurs prédites et ceux expérimentales.

Analyse des courbes en surface de réponses et en 3D

L'étude de l'interaction des deux premiers facteurs X_1 et X_2 sur l'indice de crémage, présenté par la figure V.19, donne une relation inversement proportionnelle entre Y_1 et X_2, cela signifie que l'indice de crémage diminuer avec l'augmentation de la quantité en Tween 80, une valeur de X_2 de 1.05 % donne un indice de crémage nul, c.-à-d. une émulsion stable. De l'autre part, le facteur X_1 n'a pas d'effet sur l'indice de crémage.

La figure V.20 présente l'interaction des deux premiers facteurs X_1 et X_2 sur la conductivité. Cette dernière donne une relation directe avec X_1 et X_2, c.-à-d. que la conductivité des émulsion augmente avec l'augmentation des deux facteurs, une valeur de X_1 varié entre 8 et 8.5% avec des valeurs de X_2 comprises entre 1.3 à 1.6 définie le domaine optimale de la conductivité.

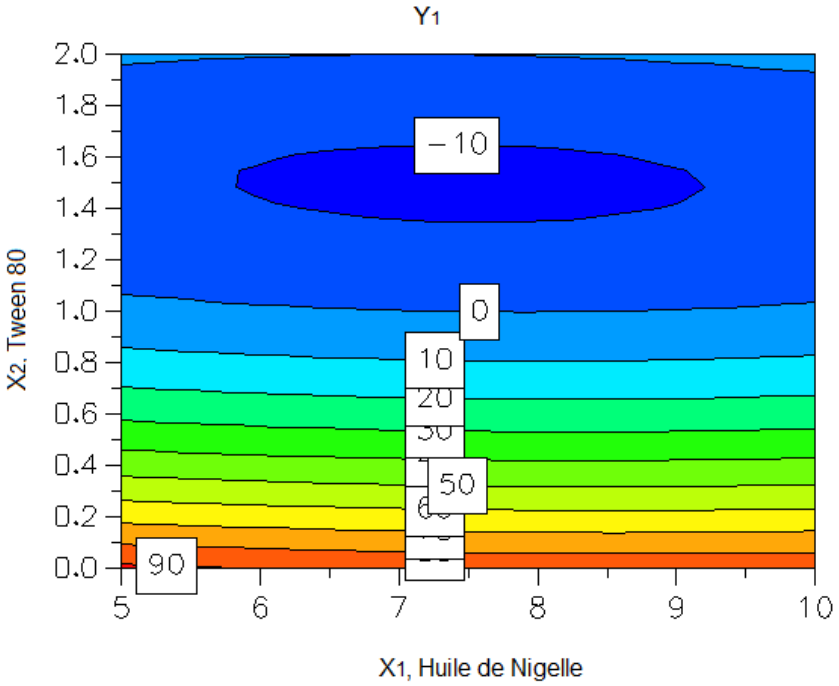


Figure V.19 : Influence de l'huile de nigelle et le Tween 80 sur l'indice de crémage.

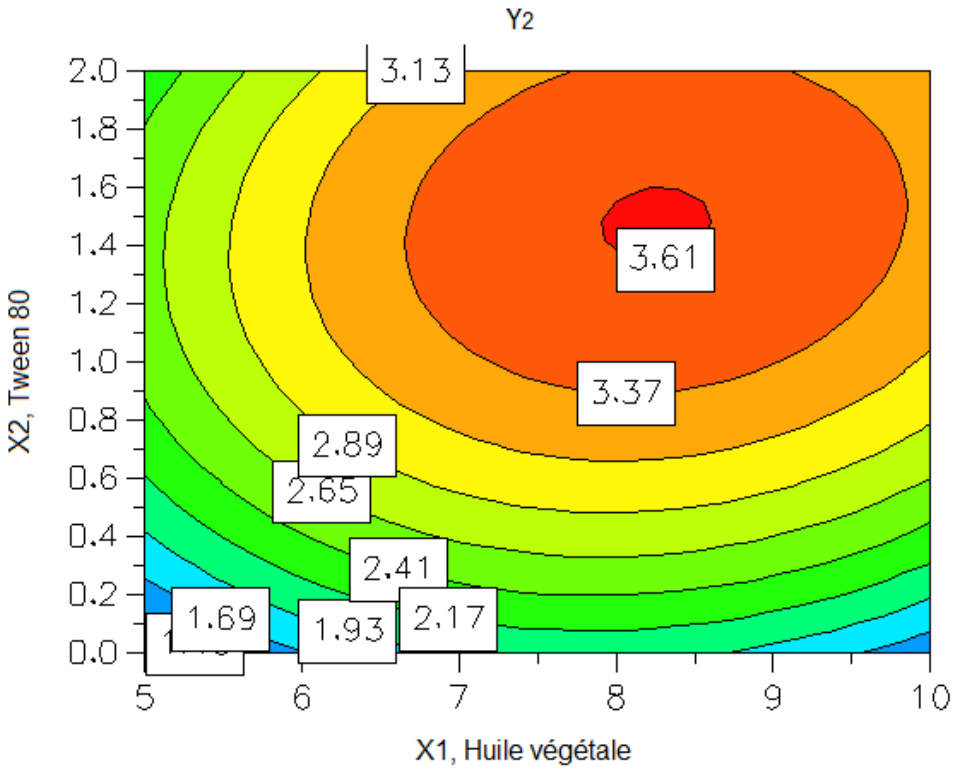


Figure V.20 : Influence de l'huile de nigelle et le Tween 80 sur la conductivité .

D'après les diagrammes ci-dessous (figure 21) qui représente l'influence des effets d'interaction des facteurs sur les deux réponses Y_1 et Y_2, l'interaction entre X_1 et X_3 n'a pas d'effet significatif sur Y_1, de même pour l'interaction X_2, X_3.

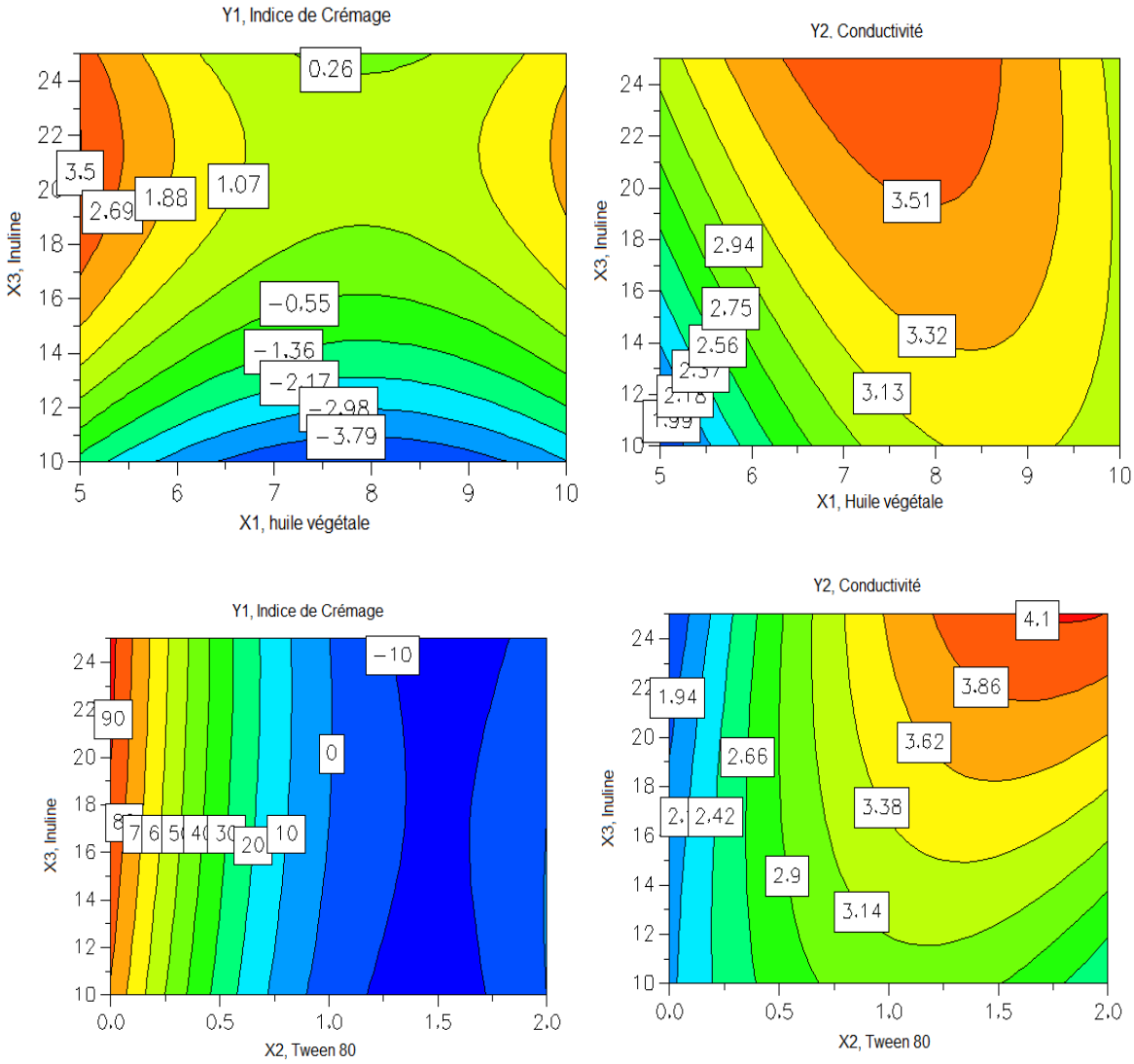


Figure V.21 : courbes de surface représentant l'influence des différents facteurs sur les réponses.

V.3.3. Caractérisation de la formule optimale

Les conditions optimales de formulation ont été choisies dont le but d'annuler l'indice de crémage et. Pour cela des contraintes ont été appliquées à l'indice de crémage $0< Y1<0.1$. La formule optimale obtenue en utilisant le plan d'expérience de Box-Behnken est constituée de 7.5% d'huile végétale de Nigelle, 1% Tween 80 et 17.5% d'inuline.

Cette formule a été soumise à quelques caractérisations notamment la détermination de l'indice de crémage, mesure de conductivité, examen microscopique et le test de stabilité au cours de stockage.

L'indice de crémage de la formule optimale est calculé selon la procédure citée dans la section IV.5.3.2, la valeur obtenue est égale à zéro (figure V.22) cela veut dire que notre émulsion gélifiée est stable à la température ambiante. La valeur de conductivité trouvée est de 3.41mS/cm ce qui veut dire que notre émulsion est huile dans l'eau (H/E)



Figure V.22: Emulsion gélifiée optimale après la centrifugation.

Les résultats de la mesure de la viscosité de la formule optimale en fonction de la vitesse de rotation sont donnés par la Figure V.23. Cette dernière présente un comportement rhéofluidifiant avec une diminution de la viscosité apparente en fonction de la vitesse de rotation du mobile R4.

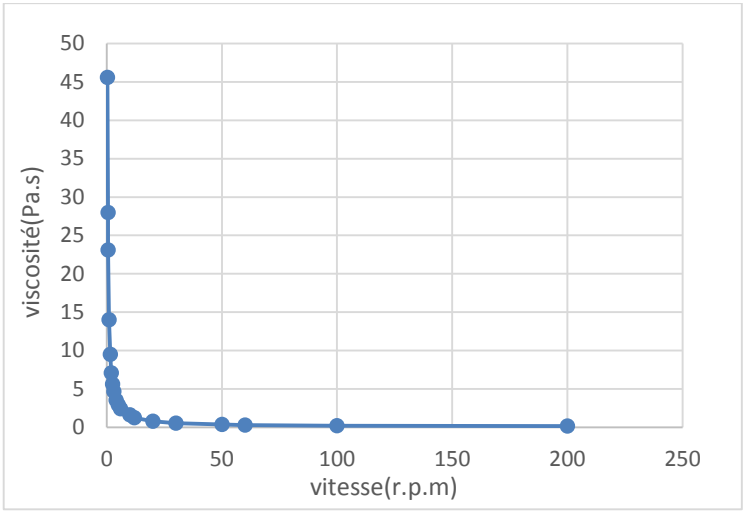


Figure V.23: Variation de la viscosité en fonction de la vitesse de cisaillement de Formulation optimale.

L'examen microscopique de l'émulgel à un agrandissement de 10 (figure V.24), a montré une bonne dispersion de la phase huileuse dans la phase aqueuse en présentant des gouttelettes dispersées de taille homogène.

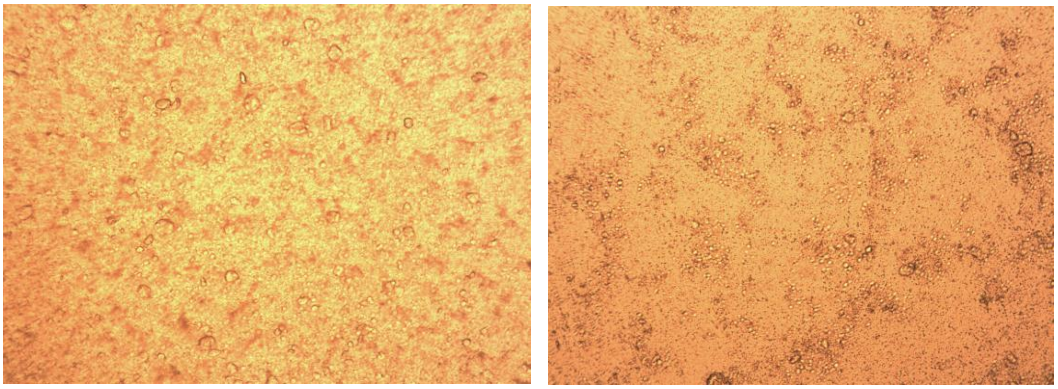


Figure V.24 : Vue microscopique de la formule optimale d'émulgel (à un agrandissement X10).

Afin d'étudier la stabilité de l'émulgel formulé au cours du temps, deux tubes à essai ont été pris en considération, le premier est laissé à la température ambiante et le 2ème tube est conservé à 4°C. Ces tubes ont été conservés pendant 1 mois, et ils ont présentées une stabilité physique avec l'absence de formation visuelle de colonies des bactéries ou des champignons (figure V.25).



(a) **(b)**

Figure V.25 : Formulation optimale après 1 mois. (**a**) : à température ambiante, (**b**) : à température (4°C)


Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le cadre de ce projet de fin d'études, on s'est intéressé à la formulation d'une émulsion gélifiée stable, en utilisant le plan expérience de Box-Behnken.

Notre travail expérimental s'est déroulé en trois parties principales:

Lors de la première partie, on a travaillé uniquement avec de l'inuline. On a déterminé son taux d'humidité ainsi que son spectre FTIR. Par la suite, on est passé à la détermination de la quantité d'inuline nécessaire pour former un gel, en étudiant l'influence de la vitesse d'agitation sur la formation du gel. Les résultats trouvés sont:

- La spectroscopie FTIR a révélé la présences des groupements caractéristiques de l'inuline notamment OH et CH_2.
- Une concentration de 5 % en inuline est insuffisante pour former un gel en utilisant les deux protocoles.
- Le protocole 2 est le meilleur pour avoir une faible C_{min} nécessaire pour la formation d'un gel (C_{min} =10%), à cause de la réduction de la taille des particules cristalline d'inuline et l'augmentation de leurs taux de rétention en eau.

La deuxième partie consiste en la détermination de certains Caractérisation organoleptiques et physico-chimique de l'huile de nigelle (phase huileuse de l'émulsion), à l'issue de laquelle nous aboutissons aux résultats suivantes:

- un aspect visqueux, de couleur jaune à brun, et une forte odeur caractéristique de Nigelle cultivée.
- Une caractérisation physico-chimique de l'huile végétale de nigelle a été réalisée en mesurant l'indice de réfraction, la densité, l'indice d'acide, l'indice de saponification et l'indice d'ester. Les valeurs trouvées sont : 1,4726 ; 0,919 g/cm^3 ; 18267, 193,545 et 175,278 mg KOH/g HV respectivement

La dernière partie a pour objectif la formulation de l'émulsion gélifiée stable en utilisant un plan d'expérience Box-Behnken basé sur la variation de trois facteurs: quantité de l'huile végétale de nigelle, le tensioactif Tween80 et la quantité du polysaccharide inuline. Deux réponses ont été prises en considération: l'indice de crémage et la conductivité. D'après les résultats trouvés nous pouvons conclure que :

- Les formulations(F3,F4,F5,F6,F7,F8,F10,F12,F13,F14,F15) sont stables tandis que les autres formulations F1, F2, F9, F11 sont instables à cause de l'absence Tensioactif (Tween 80) de la phase aqueuse, qui joue un rôle important pour la formation de l'émulsion et sa stabilité à long terme.
- Les émulgels préparées présentent une couleur blanchâtre, un aspect crémeux, homogène et lisse au toucher
- L'analyse de variance ANOVA présente des coefficients de corrélation R^2 de 0.996 pour l'indice de crémage et de 0.916 pour la conductivité
- La formule optimale obtenue est constituée de 7.5% de l'huile végétale de nigelle, 1% de Tween 80 et 17.5% d'inuline
- Une caractérisation de l'émulsion finale a été faite en calculant l'indice de crémage et la conductivité qui donnent 0 et 3.41 mS /cm respectivement
- Un test de stabilité pendant le stockage a révélé une stabilité d'émulsion gélifiée qui dure plus de 30 jours à la température ambiante

Perspectives :

- Evaluer l'effet antibactérien et antifongique de l'émulsion préparée
- Déterminer la taille des gouttelettes d'huiles formées
- Finaliser la formulation d'une crème à usage pharmaceutique et cosmétique.


Références

Références bibliographiques

[1] S.Arditty, fabrication, stabilité, et propriétés rhéologiques des émulsions stabilisées par des particules colloïdales, thèse de doctorat. Ecole doctorale des sciences chimiques, université bordeaux 1, (2004).

[2] M. Rahmoune, Formulation d'un Emulgel à base de gomme xanthane, Mémoire de Master, Université de Médéa, Génie des Procédés, option: Procédés Pharmaceutiques et Analytiques, 2013

[3] M.J. Groves, D.C. Freshwater, "Particle-Size Analysis of Emulsion Systems", Journal of Pharmaceutical Sciences, 57 (1968), 1273-1291.

[4] J. Guery, "Emulsions doubles cristallisables: stabilité, encapsulation et relargage", Thèse de Doctorat, Ecole doctorale de Physique et Chimie des Matériaux, Université de Paris VI, 2006.

[5] B. Cabane, S. Hénon, "Liquides, Solutions, dispersions, émulsions, gels", Edition Belin, 2007.

[6] O. Doumeix, "Opérations Unitaires en génie biologique. Tome 1: les émulsions". Edition Lavoisier (Bio Tech), 2011.

[7] L. Caullet, A. Dos Santos, G. Knipper, M. Rusalem, M. Seigneur, F. Michaux, "Les émulsions alimentaires et cosmétiques", Projet Professionnel 2017-2018 (https://ensaia.univ-lorraine.fr/telechargements/rapport-final-emulsions-2018.pdf).

[8] T. F. Tadros, "Applied Surfactants: principales and application", Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2005.

[9] M.H Benhamza , Nouvelles formulations pour peintures, résines et adjuvants à base de tensioactifs biodegradables, Projet PNR, Laboratoire d'Analyses Industrielles et Génie des Matériaux (LAIGM), Université de Guelma,

[10] M.R. Noor El-Din, S. H. El-Hamouly, H.M. Mohamed, M. R. Mishrif, A. M. Ragab,Water-in-diesel fuel nanoemulsions: Preparation, stability and physical properties, Egyptian Journal of Petroleum , 22 (2013), 517-530.

[11] R. Pal, Rheology of simple and multiple emulsions, Current Opinion in Colloid & Interface Science, 16(2011), 41-60.

[12] G. Muschiolik, Multiple emulsions for food use, Current Opinion in Colloid & Interface Science, 12 (2007), 213-220.

[13] F. Goodarzi, S. Zendehboudi, A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries, The Canadian Journal of Chemical Engineering, 97(2019), 281-309.

[14] K. Holmberg, B. Jönsson, B. Kronberg, B. Lindman, Surfactants and polymers in aqueous solution, 2003 John Wiley & Sons, Ltd

[15] T. F. Tadros, Emulsion Formation, Stability, and Rheology, chapter 1 in Applied surfactants Principles and Application, 2013 Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

[16] S. Akbari, A.H. Nour, Emulsion Types, Stability Mechanisms and Rheology: A Review, International Journal of Innovative Research and Scientific Studies, 1 (2018), 14-21.

[17] Hachache. L, Harfouche .Y, Optimisation par les plans d'expériences de la formulation d'une sauce alimentaire, Mémoire de Master en Génie des procédés, Faculté de Technologie, Université de Bédjaia, 2022.

[18] A. F. Majdalawieh, S. M. Yousef, I. A. Abu-Yousef, "Thymoquinone, a major constituent in Nigella sativa seeds, is a potential preventative and treatment option for atherosclerosis", European Journal of Pharmacology, 909 (2021) 174420.

[19] Md. Sanower Hossain , A. Sharfaraz , A. Dutta , A. Ahsan , Md. A. Masud, I. Adewale Ahmed, B. H. Goh , Z. Urbi , Md. M. Rahman Sarker, L. C. Ming, "A review of ethnobotany, phytochemistry, antimicrobial pharmacology and toxicology of Nigella sativa L. ", Biomedicine & Pharmacotherapy 143 (2021) 112182.

[20] M. A. Khan, M. Afzal, "Chemical composition of Nigella sativa Linn: Part 2 Recent advances", Inflammopharmacol (2016) DOI 10.1007/s10787-016-0262-7.

[21] S. Derbal, A Djekouna1, "Antimicrobial effects of Nigella sativa L.: Review", Journal of Molecular and Pharmaceutical Sciences, 1 (2022), 30-42.

[22] G. Kökdil, H. Yılmaz, "Analysis of the fixed oils of the genus Nigella L. (Ranunculaceae) in Turkey", Biochemical Systematics and Ecology 33 (2012) 1203-1209.

[23] BE. Abdesselam. "Approche ethnopharmacologique de Nigella sativa: de ses utilisations traditionnelles ancestrales aux études cliniques actuelles de ses principes actifs". Thèse de doctorat, Université de Picardie Jules Verne (UPJV), Sciences pharmaceutiques, 2015.

[24] A.F.C. Silva, P. I. Haris, M. L. Serralheiro, R. Pacheco, "Mechanism of action and the biological activities of Nigella sativa oil components", Food Bioscience 38 (2020) 100783.

[25] K. Ghedira, R. Le Jeune, "Huile de nigelle cultivée, Nigella sativa L. (Ranunculaceae)", Phytothérapie, 8(2010), 124–128.

[26] M.W. Benguerfi, A.A. Benammar, "Extraction solide-liquide sur pilote de graine aromatique", Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Chimie Spécialité Chimie Analytique, 2018

[27] L. Oukina, D. Melbous, "Activité antibactérienne et antioxydante des extraits de graines de nigelle ; Nigella sativa L", Mémoire de Master, Université de Blida, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 2019.

[28] M. Mahboubi, "Natural therapeutic approach of Nigella sativa Integrative medicine research, 7 (2018), 27–32.

[29] C. Toparslan. "A propos de Nigella sativa L.. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, Faculté de Pharmacie, 2012. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732692

[30] A. Adamska, J. Stefanowicz-Hajduk, J.R. Ochocka, "Alpha-hederin, the active saponin of nigella sativa, as an anticancer agent inducing apoptosis in the SKOV-3 cell line", Molecules 24 (2019), 2958.

[31] S. Rooney, M.F. Ryan, "Effects of alpha-hederin and thymoquinone, constituents of Nigella sativa, on human cancer cell lines", Anticancer Research. 25 (2005) 2199–2204.

[32] R. Keyhanmanesh, S. Saadat, M. Mohammadi, A.A. Shahbazfar, M. Fallahi, "The protective effect of alpha-hederin, the active constituent of Nigella sativa, on lung inflammation and blood cytokines in ovalbumin sensitized guinea pigs", Phytotherapy Research. 29 (2015), 1761–1767.

[33] Y.A. Mahmmoud, S.B. Christensen, "Oleic and linoleic acids are active principles in Nigella sativa and stabilize an E(2)P conformation of the Na,K-ATPase. Fatty acids differentially regulate cardiac glycoside interaction with the pump", Biochimica and Biophysica Acta, 1808 (2011), 2413–2420.

[34] S. Maiti, A. Banerjee, A. Nazmeen, M. Kanwar, S. Das, "Active-site molecular docking of Nigellidine to nucleocapsid/Nsp2/MPro of COVID-19 and to human IL1R and TNFR1/2 may stop viral-growth/cytokine-flood, and the drug source Nigella sativa (black cumin) seeds show potent antioxidant role in experimental rats", Journal of Drug Targeting, (2020), 511-521.

[35] M. Abdul Rahim , A. Shoukat , W. Khalid , A. Ejaz , N. Itrat , I. Majeed ,H. Koraqi, M. Imran , M. Un Nisa , A. Nazir , W. S. Alansari , A. A. Eskandrani ,G. Shamlan, A. AL-Farga, "A Narrative Review on Various Oil Extraction Methods, Encapsulation Processes, Fatty Acid Profiles, Oxidative Stability,and Medicinal Properties of Black Seed (Nigella sativa) ", Food, 11(2022), 2826.

[36] B. Matthaus, M.M. özcan, "Fatty acids, tocopherol, and sterol contents of some nigella species seed oil", Czech Journal of Food Science. 29(2011), 145–150.

[37] V.K. Babayan, D. Koottungal, G.A. Halaby, "Proximate analysis, fatty acid and amino acid composition of Nigella sativa L. seeds", Journal of Food Science 43(2006), 1314–1315

[38] O. Benzine, "Caractérisation par HPLC de quelques composés chimique de l'huile de nigelle (Nigella Sativa), et recherche d'une activité antimicrobienne", Mémoire de Master, Université de Tlemcen, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers, 2014.

[39] W. Kooti, Z. Hasanzadeh-Noohi, N. Sharafi-Ahvazi, M. Asadi-Samani, D. Ashtary-Larky, "Phytochemistry, pharmacology, and therapeutic uses of black seed (Nigella sativa) ", Chinese Journal of Natural Medicines 14(2016), 0732-0745.

[40] A. Karrandou, "La Nigelle, une panacée peu connue en Occident", Thèse de Doctorat, Université de Bourgogne, a Faculté de Pharmacie de Dijon, 2016.

[41] Richard LINDER, LES PLANS D'EXP ÉRIENCES un outil indispensable a l'expérimentateur, collection du laboratoire central des ponts et chaussées, Edition 2005.

[42] Maurice Pillet, Les Plans d'Expériences par la méthode Taguchi, Edition 2011.

[43] Walter Tinsson, Plans d'expérience : constructions et analyses Statistiques, MATHEMATIQUES & APPLICATIONS Comite de Lecture 2008–2011/Editorial Board 2008–2011.

[44] JACQUES L. GOUPY, Étude comparative de divers plans d'expériences Revue de statistique appliquée, tome 38, no 4 (1990), p. 5-44 < http://www.numdam.org/item?id=RSA_1990__38_4_5_0 >

[45] Jacques Goupy • Lee Creighton, INTRODUCTION AUX PLANS D'EXPÉRIENCES, Dunod, Paris, 2001, 2006, 3e édition.

[**46]** Jacques GOUPY, LES PLANS D'EXPERIENCES, © Revue MODULAD, 2006, Numéro 34.

[47] Maarten A. Mensinka, Henderik W. Frijlink a, Kees van der Voort Maarschalka, b, Wouter L.J. Hinrichsa, Review Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics, Journal of Carbohydrate Polymers, 130 (2015), 405–419"

[48] Kelly, G., Inulin-type prebiotics – A review: Part 1. Alternative Medicine Review, 13(2008), 315–329.

[49] Faezeh Mohammadi, Ameneh Shiri, Sima Tahmouzi, Neda Mollakhalili Meybodi, Amene Nematollahi, Review article: Application of inulin in bread: A review of technological properties and factors affecting its stability.

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

[51] Terkmane N., « modification et fonctionnalisation des polymères en vue de leurs application dans une formulations aqueuses », Thèse de Docorat, Université de Médéa, Faculté de Technologie, 2016

[52] 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.

[53] Niness, K. R. (1999). Inulin and oligofructose: what are they? The Journal of Nutrition, 129, 1402Se1406S.

[54] Bot, A., Erle, U., Vreeker, R., & Agterof, W. G. M. (2004). Influence of crystallisation conditions on the large deformation rheology of inulin gels. Food Hydrocolloids, 18(4), 547e556.

[55] Saioa Alvarez-Sabatel*, I~nigo Martínez de Mara~n_on, Juan-Carlos Arboleya, Impact of high pressure homogenisation (HPH) on inulin gelling properties, stability and development during storage, Food Hydrocolloids 44 (2015) 333e344.

[56] S. Alvarez-Sabatel, I. M. de Marañón, J-C. Arboleya, Impact of oil and inulin content on the stability and rheological properties of mayonnaise-like emulsions processed by rotor-stator homogenisation or high pressure homogenisation (HPH), Innovative Food Science and Emerging Technologies 48 (2018) 195–203

[57] N.A. Shukri, M.U. Wahit, F.F. Hilmi, S.N.K. Othman, Investigation of the stability and homogeneity of Nigella Sativa oil-inwater emulsion, Materials Today: Proceedings 29 (2020) 58–62

[58] A.F.N.O.R Huile essentielles (2000),tome 1, Paris.Densité relative : NFT 75-111, Indice de réfraction : NFT 75-112, Indice d'acide : NFT 75-103, Indice d'ester : NFT 75-104 .

[59] David Julian Mcclements (2007): Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 47:7, 611-649 ,http://dx.doi.org/10.1080/10408390701289292.

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

[61] Glibowski, P., & Galazka, A., Effect of shear forces on textural properties of inulin gels. *Acta Agrophysica, 13*(2009), 67-76.

[62] Alvarez-Sabatel S., de Marãńon I.M., Arboleya J.C., Impact of high pressure homogenisation (HPH) on inulin gelling properties, stability and development during storage, Food Hydrocolloids 44 (2015) 333-344.

[63] Atta M.B, Some characteristics of nigella (Nigella sativa L.) seed cultivated in Egypt and its lipid profile, Food Chemistry 83 (2003) 63–68.

ANNEXES

Annexe 01: Résultat de la viscosité:

- **Protocole 01:**

Vitesse (tours/min)	Viscosité (Pa.s)									
	05 % (R3)	10% (R3)	15% (R3)	20% (R3)	25% (R5)	30% (R5)	35% (R6)	40% (R6)	45% (R6)	50% (R6)
200	/	/	/	0.06	0.17	0.13	0.3	0.5	1.2	1.5
100	/	/	/	0.07	0.18	0.19	0.4	0.7	1.7	2.3
60	/	/	/	0.08	0.2	0.24	0.5	0.9	2.6	3.4
50	/	/	/	0.1	0.25	0.27	0.6	1	3	4
30	/	/	/	0.13	0.34	0.38	1	1.6	4.7	4.2
20	/	/	/	0.14	0.46	0.49	1.4	2.1	6.6	9
12	/	/	/	0.18	0.75	0.88	2.1	3.8	10.3	14.9
10	/	/	/	0.18	0.91	1.06	3	4.4	13	17.3
6	/	/	/	0.19	1.1	1.55	4.4	7.4	20	26.8
5	/	/	/	0.23	1.45	1.96	5.6	7.9	23.8	33.3
4	/	/	/	0.35	1.85	2.25	5.7	9.8	29.1	40.8
3	/	/	/	0.39	2.49	2.83	8.3	13.5	37.1	53
2.5	/	/	/	0.48	3.09	3.49	10.4	15.5	44.3	64
2	/	/	/	0.48	3.92	4.55	10.7	19.4	55.1	80.2
1.5	/	/	/	0.77	3.92	6.45	13.2	25.5	72	103.8
1	/	/	/	0.77	5.56	9.62	25	36.1	102.6	145.6
0.6	/	/	/	0.77	10.97	9.62	25	53.3	102.6	145.6
0.5	/	/	/	0.77	10.97	20.34	40.9	53.7	170.5	253.4
0.3	/	/	/	0.77	10.97	20.34	40.9	87.4	170.5	253.4

Protocole 02 :

Vitesse (tours/min)	Viscosité (Pa.s)								
	05 % (R2)	10% (R3)	15% (R3)	20% (R3)	25% (R5)	30% (R6)	35% (R6)	40% (R6)	45% (R6)
200		0.07	0.12	0.27	1.03	1.12	2.6	1.9	3
100		0.07	0.15	0.35	1.76	1.59	3.2	3.1	4.6
60		0.08	0. 21	0.45	2.63	2.63	4.6	4.8	7.2
50		0.08	0.24	0.54	3.3	3.01	5.6	6.1	8.7
30	/	0.09	0.34	0.7	5.2	4.63	9.5	9.6	13.7
20	/	0.1	0.49	1.05	7.67	7.12	12.9	15.2	20.9
12	/	0.11	0.66	1.76	13.84	11.66	21.7	23.6	32.5
10	/	0.15	0.81	2.3	16.16	14.26	22.2	29.3	40.9
6	/	0.16	1.24	2.33	26.63	23.65	42.6	47.6	65.5
5	/	0.21	1.54	4.47	32.29	29.02	50.9	56.5	76.9
4	/	0.26	1.91	5.32	40.57	35.89	62.9	70.5	94.6
3	1	0.35	2.57	7.41	54.76	47.94	81.6	92.8	125.4
2.5	1.572	0.45	3.19	9.07	66.5	58.14	98	110.8	145.3
2	2.28	0.6	4.06	11.48	83.67	72.78	120.9	134.2	168.1
1.5	4.617	0.86	5.56	15.51	112.04	97.32	121.4	160.6	191.9
1	4.179	1.38	8.39	22.81	169.88	144.42	201.4	202.3	241
0.6	4.179	1.38	8.39	22.18	169.88	144.42	201.4	202.3	306.2
0.5	10.682	2.69	16.77	22.81	327.55	144.42	320.9	323.5	306.2
0.3	10.853	2.69	16.77	78.17	327.55	144.42	464.3	323.5	567.6

Annexe 2: Résultats de la viscosité de Formule optimale F_{opt}

Vitesse (tours/ min)	Viscosité(Pa.s) de formule optimale
	R4
200	0.16
100	0.23
60	0.32
50	0.38
30	0.56
20	0.79
12	1.27
10	1.63
6	2.42
5	2.91
4	3.55
3	4.67
2.5	5.63
2	7.11
1.5	9.52
1	14.01
0.6	23.11
0.5	28
0.3	45.55