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***

# *Mise au point d'un système dispersé stable à usage pharmaceutique*

***Proposé et dirigé par :***
Dr. TERKMANE Naila

***Réalisé par :***
FORTAS Selma

***Soutenue le 25/06/2024, 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 |

**2023-2024**

# Remeciment

Je remercie tout d'abord ﷲle tout puissant qui ma donné la santé, le courage et la patience pour mener ce modeste travail.

Je tiens à remercier mon promotrice **TERKMANE Naila** pour son précieux conseils son aide, ses orientations durant toute la période du travail, Je la remercie pour sa réactivité lors de la rédaction.

Je remercie également les *jurys* d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie toutes les personnes qui m'ont aidée au cours de ces travaux, notamment les *ingénieurs* du laboratoire.

Je remercie finalement tous ceux qui en contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce modeste travail.

# *Dédicase*

J’ai le grand honneur de dédie ce modeste travaille à :

A mes parents :

Pour votre soutien total et indéfectible, votre confiance, pour toutes les valeurs que vous avez su m'inculquer, Vous avez largement contribué à ma persévérance, c’est à vous que je dois ce travail.

A mes chères frères

A toute ma famille

A tous mes camarades de la promotion 2024

**ملخص**

كان الهدف من هذا العمل صياغة مستحلب هلامي مستقر يعتمد على الاينولين كبوليمير تبلور. تم تحسين التركيبة باستخدام التصميم التجريبيD-Optimal الذي أخذ في الاعتبار ثلاثة عوامل: كمية زيت حبة البركة النباتية، كتلة توين 80 و كمية الاينولين . وقد أخذت استجابة واحدة فقط في الاعتبار في هذا ا لتصميم التجريبي، وهي مؤشر التكريس. تتكون التركيبة المثلى المستقرة المثلى مع مؤشر الدهن 0 من 7.0531% إينولين و 6.2796% زيت نباتي من الكمون الأسود و 0.8836% توين 80. تم إجراء دراسة للمستحلب الهلامي الأمثل من خلال دراسة اللزوجة والمظهر المجهري والثبات خلال 30 يومًا من التخزين في درجة حرارة الغرفة و4 درجات مئوية و40 درجة مئوية.

**الكلمات المفتاحية** : مستحلب، التصميم التجريبي، مؤشر الدهن، الاينولين، صياغة

**Résumé**

Le but de ce travail est de formuler une émulsion gélifiée stable à base d'inuline comme polymère gélifiant. L'optimisation de la formulation a été réalisée à l'aide d'un plan d'expérience D-optimal prenant en compte trois facteurs : le volume de l'huile végétale de nigelle, la masse de Tween 80 et la quantité d'inuline. Une seule réponse a été prise en considération dans ce plan d'expérience qui est l'indice de crémage. La formule optimale stable, possédant un indice de crémage 0, est composée de 7,0531% d'inuline, 6,2796% d'huile végétale de nigelle et 0,8836% Tween 80. La caractérisation de l'émulsion gélifiée optimale est réalisée en étudiant la viscosité, aspect microscopique et la stabilité pendant 30 jours de stockage à température ambiante, à 4ºC et à 40ºC.

**Mots clés** : émulsion, plan d'expérience, indice de crémage, inuline, formulation

**Abstract**

The aim of this work is to formulate a stable gel emulsion based on inulin as a gelling polymer. The formulation was optimized using a D-optimal experimental design taking into account three factors: the volume of nigella vegetable oil, the mass of Tween 80 and the amount of inulin. Only one response was taken into account in this experimental design, namely the creaming index. The optimum stable formula with a creaming index of 0 is made up of 7.0531% inulin, 6.2796% black cumin vegetable oil and 0.8836% Tween 80. Characterization of the optimal gel emulsion is carried out by studying viscosity, microscopic appearance and stability during 30 days' storage at room temperature, 4ºC and 40ºC.

**Keywords:** Emulsion, experimental design, creaming index, inulin, formulation

**Sommaire**

Remerciement

Dédicace

Résumé (arabe, français, anglais)

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviations

Introduction général……1

**Chapitre I : Généralité sur les émulsions**

I.1. Introduction…….... 3

I.2. Définition……. 3

I.3.Classification des émulsions……. 3

I.3.1. Classification basé sur la nature de la phase dispersée ……..... 3

I.3.2. Classification basée sur la fraction volumique……..... 4

I.3.3. Classification basée dur la taille des gouttelettes……..... 4

I.4. Stabilité des émulsions……..... 6

I.4.1. Déstabilisation biologique……... 6

I.4.2. Déstabilisation chimique…….. 6

I.4.3. Déstabilisation physique…….. 6

I.5. Tensioactifs……. 10

I.5.1. Définition…….. 10

I.5.2. Classification des tensioactifs…….……. 10

I.5.2.1. Tensioactif cationique…… 10

I.5.2.2. Tensioactif amphotères…….. 11

I.5.2.3. Tensioactif non ionique……..... 11

I.5.2.4. Tensioactif anionique……..... 11

**Chapitre II : Inuline**

II.1.Introduction…… 12

II.2. Structure chimique de l'inuline…….. 12
II.3.plantes productrices d'inuline……... 13
II.4. Caractéristique physico-chimique d'inuline…… 14
II.4.1. Solubilité……...……... 14
II.4.2. Gélification……... 15
II.4.3. Longueur de la chaine …….. 16
II.4.4. Hydrodynamique d'inuline……..... 16
II.4.5. Propriétés thermique …… 17
II.4.5.1. Température de transition vitreuse …… 17
II.4.5.2. Sorption de vapeur……...…. 18
II.4.5.3. Température de fusion…….… 19
II.5. Dégradation de l'inuline……..... 19
II.6. Effet de l'inuline sur l'organisme ……..… 20
II.7. Application de l'inuline ……..... 20
II.7.1. Application dans le domaine médical…… 20
II.7.2. Application dans le domaine non alimentaire…… 20
II.7.3. Application dans le domaine alimentaire……... 21

**Chapitre III : Matériel et méthodes**

III.1. Introduction…….. 22
III.2.Matériel et produit utilisées……... 22
III.2.1. Matériel utilisées……... 22
III.2.2. produits chimiques…… 23
III.2.3. Huile végétale de Nigelle……. 23
III.3.Caractérisation de l'HVN……. 24
III.3.1.Acticité antioxydante de HVN…….. 24
III.3.2.Pouvoir réducteur…….. 26
III.4.Formulation des émulsions à base de l'HVN……..…… 26
27

III.4.2.Préparation des dispersions de l'inuline…….. 28
III.4.3. Formulation des émulgels à base de l'HVN…….. 29
III.4.4. Mesure de l'indice de crémage ……. 29
III.5. Caractérisation de la formule optimale……. 30
III.5.1. Comportement rhéologique..…… 31
III.5.2. Aspect microscopique…… 31
III.5.3. Stabilité au cours du stockage……..... 32

**Chapitre IV : Résultats et discussion**

IV.1.Introduction……. 33
IV.2. Caractérisation de l'HVN……..…….. 33
IV.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante……..……. 33
IV.2.2. Evaluation du pouvoir réducteur ..... 34
IV.3. Formulation des émulsions gélifiées à base de l'huile de nigelle …….. 35
IV.3.1. Analyse statistiques…….. 36
IV.3.2. Analyse ANOVA……. 39
IV.3.3.Equation du modèle ……..…….. 40
IV.4. Caractérisation de la formule optimale…… 41
IV.4.1. Comportement rhéologique……. 42
IV.4.2. Examen microscopique…… 43
IV.4.3. Stabilité au cours de stockage……. 43
Conclusion générale……..... 44
Référence bibliographique

## Liste des figures

**Figure I.1 :** Types d'émulsions simples……. 4

**Figure I.2 :** Principaux types d'émulsions complexes ……..... 4

**Figure I.3** *:* Différents types de microémulsion……. 5

**Figure I.4**. Phénomène de Mûrissement d'Ostwald……... 7

**Figure I.5** : Phénomène de floculation …….. 8

**Figure I.6** : Phénomène de coalescence …… 8

**Figure I.7** : Phénomène d'inversion de phase……..... 9

**Figure I.8** : Phénomène de crémage et de sédimentation…….. 9

**Figure I.9**: Représentation schématique de différentes classes de tensioactif……... 11

**Figure. II.1** : Structure chimique de fructose (β)……... 13

**Figure II.2** : Structure chimique de l'inuline avec n>10……..... 13

**Figure II.3** : Représentation du schéma de marquage atomique de la chaîne de l'inuline……... 15

**Figure II.4** : Viscosité intrinsèque en fonction de la masse molaire…….. 17

**Figure II.5** : Structure de tréhalose…… 19

**Figur II.6** : Dépolymérisation de saccharose……. 20

**Figure III.1** : Centrifugation de l'HVN……. 24

**Figure III.2** : 1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl (radicale libre)……. 24

**Figure III.3 :** 1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl (non radicalaire)…….. 25

**Figure III.4** : Préparation d'une émulsion……. 29

**Figure III.5** : Représentation schématique de crémage ……... 30

**Figure III.6** : Viscosimètre à tige …….. 31

**Figure III.7 :** Microscopique optique……. 31

**Figure IV.1** : HVN après centrifugation…… 33

**Figure IV.2 :** Activité anti-oxydante de l'HVN……. 34

**Figure IV.3** : Variation du taux d'inhibition en fonction de la concentration de : l'huile de nigelle à gauche et l'acide férulique à droite…… 34

**Figure IV.4 :** Variation de la DO en fonction de la concentration de l'huile de Nigelle……. 35

**Figure IV.5 :** Tracé récapitulative des résultats……. 38

**Figure IV.6 :** Analyse de variance ANOVA pour l'indice de crémage……. 40

**Figure IV.7** : Effets des différents facteurs sur l'indice de crémage…….. 40

**Figure IV.8 :**Influence de tween 80 sur l'indice de crémage……. 41

**Figure IV.9 :** Influence de tween 80 et de l'huile de nigelle sur l'indice de crémage …….. 41
**Figure IV.10 :** Viscosité de l'inuline en fonction de la vitesse de rotation……. 42
**Figure IV.11**: Viscosité de la formule optimale en fonction de la vitesse de rotation…… 42

## Liste des tableaux

**Tableau II.1 :** Certaines plantes productrices d'inuline 14
**Tableau III.1 :** Matériel utilisés 22
**Tableau III.2 :** Produits utilisés 23
**Tableau III.3 :** Dilutions préparées de l'huile végétale de Nigelle 25
**Tableau III.4** : Concentrations de l'acide férulique utilisées 26
**Tableau III.5** : Variables du Plan D-optimal 27
**Tableau III.6** : Matrice des expériences 28
**Tableau IV.1 :** Volume de différents constituants des émulsions formulées 36
**Tableau IV.2 :** Résultats de l'indice de crémage des différentes formulations 37
**Tableau IV.3 :** Résultats de l'ANOVA pour l'indice de crémage 39

**Liste des symboles et des abréviations**

**DP:** Degré de polymérisation

**DPPH** :1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl

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

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

**H/E :** Emulsion huile dans l'eau.

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

**HR :** humidités relatives.

**HVN** : huile végétale de nigelle

**NS** : la Nigelle cultivée (*Nigella Sativa* L.)

**PH** : potentiel hydrogène

$\boldsymbol{T_g}$ **:** Température de transition vitreuse

$\boldsymbol{T_f}$ **:** température de fusion

$\mathbf{X_1}$**,** $\mathbf{X_2}$**,** $\mathbf{X_3}$ **:** Facteurs du plan d'expérience D-Optimal

**Y :** réponses du plan d'expérience D-Optimal

# Introduction générale

# Introduction générale

Les émulsions sont des préparations généralement liquides, destinées à être administrées directement ou à être utilisés comme excipients. Ceux-ci sont créés en dispersant un liquide sous forme de globules dans un autre liquide non miscible. Les émulsions sont constituées de deux phases, chacune contenant un ou plusieurs principes actifs et diverses substances auxiliaires. Des édulcorants et des aromatisants sont ajoutés à ceux destinés à l'administration orale.

Les polysaccharides constituent une famille de biopolymères dont la diversité de structures conduit à un large spectre de propriétés physico-chimiques, et donc d'applications potentielles. Ils sont très souvent employés, pour leurs propriétés, comme des agents texturants, épaississants ou gélifiants, galants, filmogènes ou de charges dans divers domaines : agroalimentaire, cosmétique et pharmaceutique. Certains polymères sont également utilisés comme agents stabilisants, notamment dans l'industrie des peintures, en agroalimentaire, et dans l'industrie pétrolière.

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.

L'objectif principal de ce travail est de formuler une émulsion stable à base d'huile végétale de nigelle et d'inuline. Une planification des expériences a été réalisée en utilisant un plan d'expérience D-optimal en prenant en considération trois facteurs à savoir : le volume de l'huile de Nigelle, la quantité de l'inuline et la masse de tensio-actif utilisée.

Ce mémoire est structuré en deux grandes parties, une partie théorique subdivisée en deux chapitres le premier est consacré aux généralités sur les émulsions et le deuxième est réservé au polysaccharide étudié. La deuxième partie est réservée au travail expérimental, dont on présente dans le 3$^{ème}$ chapitre le matériel et les différentes méthodes utilisées pour la formulation et la caractérisation des émulsions, les résultats obtenus sont

présentés dans le dernier chapitre avec leur interprétation. Finalement, On finalise notre travail par une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

# Chapitre I

## Généralité sur les émulsions

# Chapitre I : Généralités sur les émulsions

## *I.1. Introduction*

Les émulsions présentant une base très importante pour les produits manufacturés dans tous les domaines, tels que, le domaine alimentaire (lait, crème, mayonnaise, beurre etc.) la pharmacie, l'agrochimie et aussi la cosmétologie. Alors, le problème de stabilité de ces émulsions présent un grand défi pour les formulateurs. Elles peuvent se séparer facilement selon différents mécanismes. Alors, l'instabilité de l'émulsion se traduit par des modifications à la fois de la taille et du nombre de gouttelettes présentes dans l'émulsion et par des changements de l'aspect macroscopique des émulsions. **[1]**

## *I.2. Définition*

Une émulsions est la dispersion d'un liquide en fines gouttelettes dans un autre liquide non miscibles, c'est-à-dire que le liquide sous forme de gouttes se présente sous la forme d'une phase dispersée et discontinue ou d'une phase interne, tandis que l'autre liquide est appelé la phase de dispersion ou la phase continue et externe, et il n'ont pas la même solubilité, car l'un d'eux est hydrophobe pour les corps gras et l'autre est hydrophile, par exemple l'eau est dispersée dans l'huile ou inversement. **[2]**

## *I.3. Classification des émulsions*

### *I.3.1. Classification basée sur la nature de la phase dispersée*

- ***Emulsion simple***

Une émulsion simple, également appelée simplement une émulsion, se compose de deux liquides non miscibles, l'un dispersé sous forme de petites gouttelettes sphériques dans l'autre. La substance formant des gouttelettes dans l'émulsion est appelée phase continue ou externe. Les émulsions peuvent être classées selon la répartition spatiale relative de l'huile et de la phase aqueuse :

a. Emulsion huile-dans-eau (H/E) : les gouttelettes d'huile sont dispersées dans la phase aqueuse.
b. Emulsion eau-dans-huile (E/H) : gouttelettes d'eau dispersées dans la phase huileuse. **[3]**

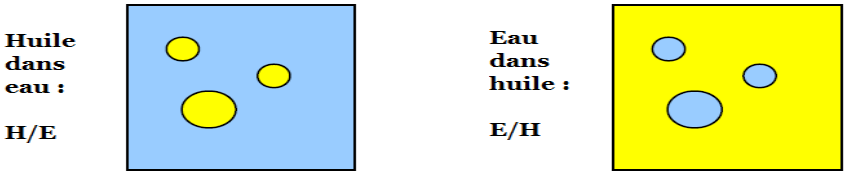



**Figure I.1 :** Types d'émulsions simples

❖ ***Emulsion complexe***

Ce sont des systèmes complexes et peuvent être décrits comme des émulsions incorporées dans d'autres émulsions. Les deux principaux types d'émulsions multiples sont les émulsions complexes eau-dans-huile-dans-eau (E/H/E) et huile-dans-eau-dans-huile (H/E/H). **[4]**

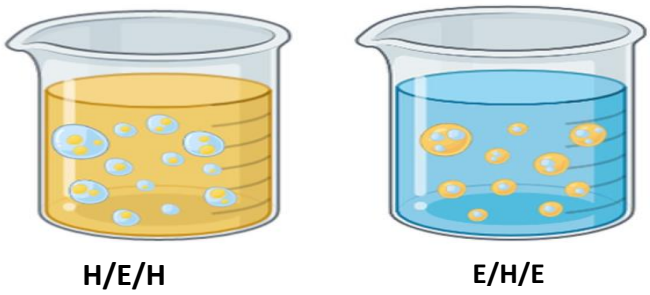



**Figure I.2 :** Principaux types d'émulsions complexes

### *I.3.2. Classification basée sur la fraction volumique*

Une autre classification est donnée selon la fraction volumique de la phase dispersée. Les émulsions sont dites :

a. Dilué si la fraction volumique est inférieure à 5%.
b. Concentré lorsque la fraction volumique est supérieure ou égale à 74%. **[2]**

Plus l'émulsion est concentrée, plus les gouttelettes du liquide dispersées se compriment et se séparent en film de phase continue de plus en plus fin ce qui favorise les interactions entres elles. Ainsi, le paramètre de concentration demeure crucial pour la formulation et la stabilité des émulsions puisqu'il renvoie aux interactions entre les gouttelettes de la phase interne. **[5]**

### *I.3.3. Classification basée sur la taille des gouttelettes*

❖ ***Macroémulsions***

Egalement appelées émulsions classiques ou conventionnelles, ce sont des émulsions dont le diamètre des gouttelettes et de l'ordre du micromètre, elles sont

thermodynamiquement instables et généralement elle sont obtenues par agitation mécanique. Cependant, le terme «émulsion» a traditionnellement été utilisé pour ce groupe de systèmes émulsifiants sans autre précision. **[6]**

❖ ***Microémulsions***

Les microémulsions sont des mélanges isotropes d'huile, d'eau et de tensioactifs généralement en présence d'un co-tensioactif. Contrairement aux émulsions, les microémulsions sont thermodynamiquement stables et translucides, la taille des gouttelettes de la phase dispersée est généralement entre 10-100 nm.

En plus d'être plus viables sur le plan commercial en raison de leur stabilité, les microémulsions suscitent également l'intérêt des chercheurs en raison de leur potentiel en tant que vecteurs de médicaments et dans d'autres applications dans les industries alimentaire, pharmaceutique et pétrochimique. **[7]**

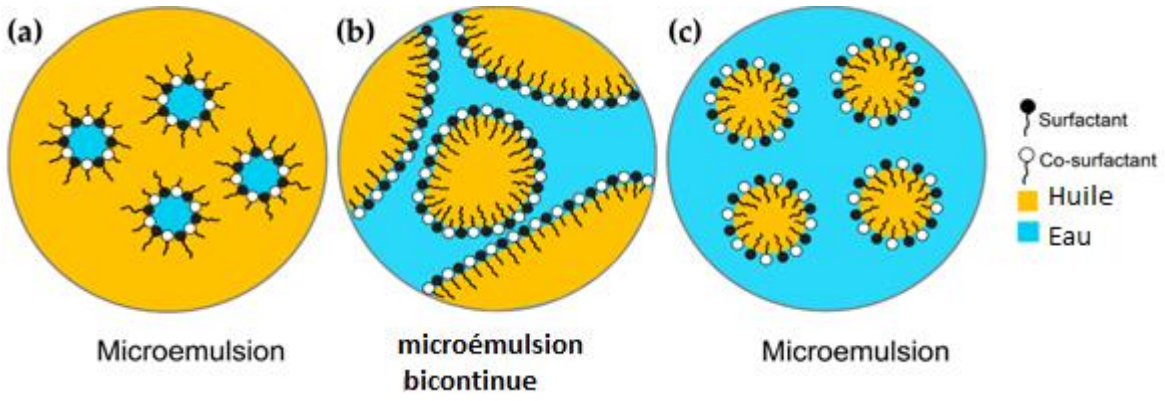



**Figure I.3 :** Différents types de microémulsion

❖ ***Nanoémulsions***

Les nanoémulsions sont des émulsions dont les diamètres de gouttelettes sont nanométriques allant de 5 à 200 nm. Ce sont des systèmes métastables c'est-à-dire hors équilibre thermodynamique. Cependant, en raison du très petit diamètre des gouttelettes elles présentent une stabilité cinétique plus élevée par rapport aux macroémulsions. Les nanoémulsions sont largement utilisées dans divers domaines dont celui de la pharmacie et dans les systèmes de délivrance des substances médicamenteuses. **[8]**

## *I.4. Stabilité des émulsions*

Les émulsions englobent un grand nombre de matériaux et produits de tous les jours, y compris des produits alimentaires, des articles de soins personnels et des produits pharmaceutiques. Comme les émulsions sont intrinsèquement instables sur le plan thermodynamiques, la compréhension des facteurs théoriques influant sur la stabilité de l'émulsion est essentielle pour l'expérimentateur.

La stabilité d'un système dispersé est caractérisée par un comportement constant dans le temps de ses paramètres de base, à savoir la dispersité et la distribution uniforme de la phase dispersée dans le milieu.

Le processus par lequel une émulsion se rompe complétement est régi par plusieurs mécanismes de perte de gouttelette à savoir la floculation, le crémage ou la sédimentation, la coalescence et le murissement d'Ostwald. **[9]**

Les émulsions sont des états dispersés et en ce sens ils sont métastables qui peuvent se déstabiliser, on distingue trois formes d'instabilité :

### *I.4.1. Déstabilisation biologique*

En raison du risque de dégradation (changement de viscosité, couleur, odeur ou séparation), la formulation ne doit pas être un terrain fertile pour les levures, moisissures ou bactéries, mais surtout éviter les problèmes d'application. **[10]**

### *I.4.2. Déstabilisation chimique*

Aucun des ingrédients de l'émulsion ne doit participer à des réactions chimiques susceptibles d'altérer significativement la stabilité physique ou d'altérer les propriétés d'application (aspect, couleur odeur). **[11]**

### *I.4.3. Déstabilisation physique*

Au cours du temps, une émulsion évolue fatalement vers la séparation des phases. Les mécanismes de déstabilisation d'une émulsion peuvent être répartis en deux catégories :

- La première regroupe les phénomènes de migration des gouttes et met en jeu des phénomènes réversibles : floculation, sédimentation et crémage.
- La seconde concerne la variation de taille des gouttes, consistant en des processus irréversibles: coalescence, mûrissement d'Ostwald ou inversion de phase. **[12]**

Ce sont les causes d'instabilité les plus fréquentes, ces phénomènes peuvent survenir au moment de la formulation ou en cours de conservation, leur maitrise est une condition essentielle dans la mise au point des émulsions. **[13]**

- ***Mûrissement d'Ostwald***

La maturation d'Ostwald est un phénomène irréversible dans lequel de petites gouttelettes en solution de la phase continue se brisent et se déposent sur des gouttelettes plus grosses, atteignant un état thermodynamiquement plus stable où le rapport de surface est minimisé. La force motrice de la maturation d'Ostwald est la différence de pression de Laplace entre les petites et les grosses gouttelettes. Une pression élevée sur une petite gouttelette entraînera le déplacement de la gouttelette vers une gouttelette de plus grand diamètre. Pour une goutte de rayon R, la pression Laplacienne est donnée par : **[14]**

$$\pi = \frac{2\gamma}{R}$$

**γ** : La tension interfaciale à la limite de séparation (N/m)

**R** : rayon de la gouttelette (m)

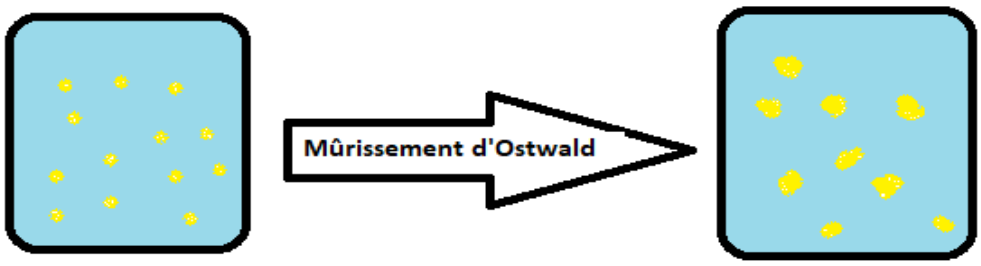



**Figure I.4** : Phénomène de Mûrissement d'Ostwald

- ***Floculation***

La floculation commence dans les émulsions dès que l'agitation est arrêtée. Les agrégats commencent à se former très rapidement : en effet leur temps de formation est compris entre quelques fractions de secondes et plusieurs secondes, en fonction de la concentration de la phase aqueuse interne. Cependant, leur structure dans les émulsions E/H et la vitesse de leur formation dépendent de la concentration de la phase dispersée.

Pour des gouttes aqueuses ayant une taille comprise entre 100 et 300 nm, le mouvement brownien est la principale raison de la floculation. En effet, si des particules entrent en

collision cela conduit à la formation d'agrégats contenant des centaines de gouttelettes. Ces agrégats peuvent avoir une forme sphérique compacte. Dans ce cas, une augmentation de la taille des agrégats conduit à leur sédimentation et à la séparation de la phase organique de l'émulsion. De plus, ces agrégats peuvent être des structures ramifiées qui occupent presque la totalité du volume des émulsions H/E ou E/H. **[15]**

Cependant, la floculation peut être maitrisée :

- En augmentant la viscosité de la phase dispersante car si elle est plus épaisse cela diminue la vitesse de collision entre les gouttelettes.
- En ajoutant des tensioactifs.

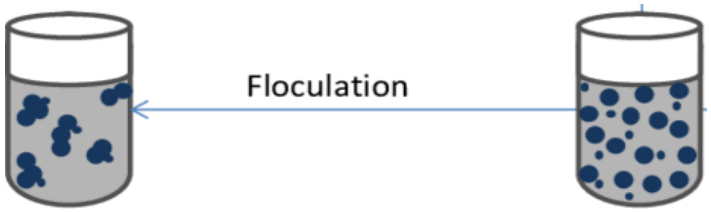



**Figure I.5 :** Phénomène de floculation

➢ ***Coalescence***

La coalescence est le mécanisme par lequel deux ou plusieurs gouttelettes adjacentes d'une phase dispersée fusionnent de manière irréversible en une gouttelette plus grosse. Cela peut provoquer la rupture de l'émulsion et la séparation des deux phases non miscibles. Sur l'échelle à deux gouttes, ce phénomène est classé en trois phases : fusion des deux gouttes, éjection et rupture du film interracial. L'agrégation est généralement affectée par la fraction volumique de la phase dispersée, la viscosité et l'épaisseur de la couche d'émulsifiant adsorbée et la cristallisation de la graisse. **[16]**

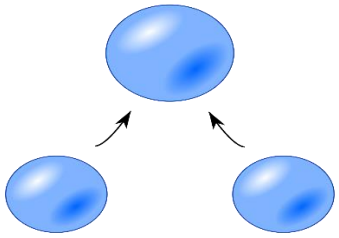


**Figure I.6** : Phénomène de coalescence

- ***Inversion des phases***

L'inversion des phases est un phénomène qui se traduit par un brusque changement du sens de l'émulsion. L'émulsion E/H se transforme en une émulsion H/E ou inversement, et les propriétés du milieu diphasique s'en trouvent bouleversées. **[12]**

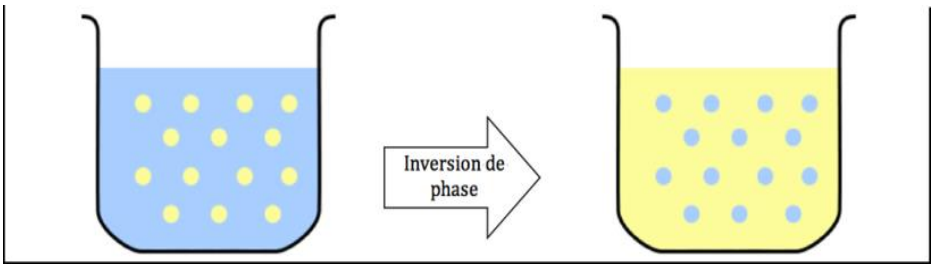



**Figure I.7** : Phénomène d'inversion de phase

- ***Crémage et sédimentation***

Ce mécanisme résulte de la différence de densité entre la phase dispersée et la phase continue. On parle de crémage quand il s'agit d'une ascension de la phase dispersée et de sédimentation quand la phase dispersée chute. Il s'agit d'un phénomène réversible. **[17]**

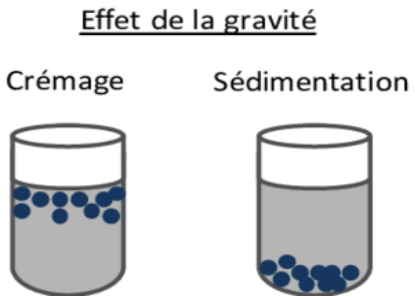



**Figure I.8 :** Phénomène de crémage et de sédimentation

Le crémage et la sédimentation peuvent être contrôlé par : **[18]**

- Augmentation de la viscosité de la phase dispersée.
- Diminuez la taille des gouttelettes.

La vitesse de crémage ou de sédimentation des particules sphériques dans un fluide newtonien est déterminée la loi de stocks :

$$V = \frac{2r^2(\mathrm{d}_1 - d_2)g}{9\eta}$$

V : vitesse de crémage ou de sédimentation [m/s]

r : Rayon de la particule (m)

$d_1$ : Densité de la particule ($Kg/m^3$)

$d_2$ : Densité de la phase dispersante ($Kg/m^3$)

g : Accélération de la pesanteur (9.81 $m/s^2$)

ŋ : viscosité de la phase dispersante ($m^2/s$)

## *I. 5. Tensioactifs*

### *I.5.1. Définition*

C'est un composé chimique dissous ou dispersé dans un liquide, qui s'adsorbe préférentiellement à l'interface, où il détermine un ensemble de propriétés physique et chimique d'importance pratique, ils sont des substances amphibies de nature synthétique ou naturelle, dont le rôle est de modifier les propriétés des interfaces. Tous les tensioactifs ont une structure commune et sont constitués de deux parties distinctes, l'une hydrophile et polaire et l'autre lipophile et apolaire. **[19]**

### *I.5.2. Classification des tensioactifs*

La classification la plus simple des tensioactifs est basée sur le type de groupes hydrophiles qui composent leurs molécules. Quatre classes de tensioactifs peuvent être distinguées, à savoir anionique, cationique, amphotère et non-ionique.

#### *I.5.2.1. Tensioactifs cationiques*

La partie hydrophile est chargée positivement. Les tensioactifs cationiques sont employés dans les shampoings, après-shampoings ainsi que pour leurs propriétés antibactériennes. Ce sont très bons démêlants car ils ont la capacité de diminuer l'électricité statique des cheveux. Mais ils se révèlent très irritants pour la peau et les yeux. Ils sont peu employés en cosmétologie à cause de leur rémanence et de leur toxicité, où alors sont associés à d'autres composés plus doux. Ce sont les polyquaterniums. **[20]**

#### *I.5.2.2. Tensioactifs amphotères*

La combinaison dans une même molécule, des deux caractères anionique et cationique produit un tensioactif appelé zwitterionique ou amphotère, comme les aminoacides, les bétaïnes ou les phospholipides. Dans la plupart des cas, c'est le pH qui

détermine le caractère dominant, du fait qu'il favorise l'une ou l'autre des dissociations possibles :

- Anionique à pH alcalin.
- Cationique à pH acide. **[21]**

### *I.5.2.3. Tensioactifs non ioniques*

Les tensioactifs non ioniques, par définition sont non-ionisable. Ce sont surtout des émulsionnants, mouillants et solubilisant. Une grande variété des composés peuvent être trouvés dans ce groupe, qui vont des substances très lipophiles jusqu'à des produits très hydrophiles voire hydrosolubles, en passant par des composés intermédiaires. Ces tensio-actifs sont les plus utilisés en tant qu'émulsionnants en formulation cosmétique notamment les esters d'acides gras et de polyols, les alcools gras éthoxylés, les esters de sucre, etc. **[20]**

### *I.5.2.4. Tensioactifs anioniques*

Les tensioactifs anioniques sont les plus utilisés dans les applications industrielles en raison de leur faible coût de fabrication et de leur utilisation dans pratiquement tous les types de détergents. Pour une détergence optimale, la chaîne hydrophobe est un groupe alkyle linéaires sont préférées car elles sont plus efficaces et plus dégradables que les chaîne ramifiées. **[22]**

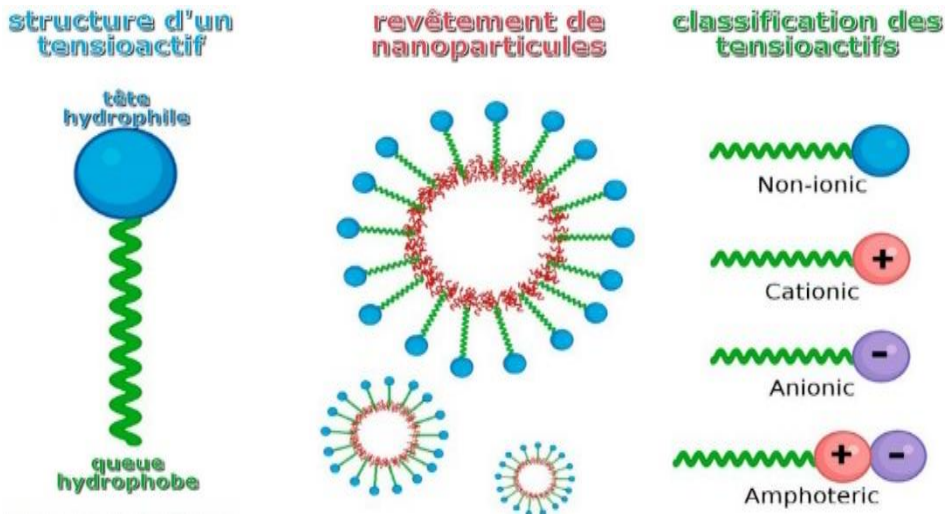



**Figure I.9 :** Représentation schématique des différentes classes de Tensioactif

# Chapitre II

*Inuline*

# Chapitre II : Inuline

## *II.1. Introduction*

Les polysaccharides sont la deuxième grande classe de biopolymères après les protéines. Ces macromolécules sont produites par diverses espèces, notamment, des plantes, des animaux, des bactéries et des membres de la famille des champignons. **[23]**

Ces biopolymères sont généralement très hydrophiles, dans un certain nombre de cas hydrosolubles, mais aussi biodégradables et biocompatibles. Ainsi, les polysaccharides ont pris une place importante dans le monde des polymères, comme le prouve le nombre des études croissant et qui touchent à des applications de plus en plus diversifiées. **[24]**

## *II.2. Structure chimique de l'inuline*

L'Inuline est un polysaccharide de stockage naturel d'origine végétale, qui a de nombreuses applications alimentaires et pharmaceutiques. Il s'agit d'un substitut du sucre ou de la graisse ayant une très faible valeur calorique, qui agit de la même manière que les fibres alimentaires et contribue à améliorer les conditions du système gastro-intestinal. Parmi les autres applications pharmaceutiques possibles, on peut citer son utilisation comme médicament administré par voie orale ciblant le côlon, pour retarder l'absorption de médicaments ayant des effets indésirables sur l'estomac, ou le traitement de maladies dont les symptômes atteignent leur paroxysme en début de matinée. **[25]**

Le terme « fructane » est un terme général utilisé pour les oligo- et polysaccharides végétaux naturels et désigne tout composé glucidique dans lequel une ou plusieurs liaisons fructosyl-fructose constituent la majorité des liaisons glycosidiques. Les fructanes sont des polymères de fructose linéaires ou ramifiés qui sont reliés par deux types de liaisons: β(2→1) comme dans l'inuline, ou β(2→6), comme dans les fructanes de type lévogyre.

Parmi les fructanes de type inuline, on trouve deux groupes généraux de substances, l'inuline et ses sous-ensembles (les fructooligosaccharides, FOS). L'inuline est un hydrate de carbone polydispersé constitué principalement de liaisons β(2→1) fructosyl-fructose où le nombre des unités de fructose varié entre 2 à 70. **[26]**

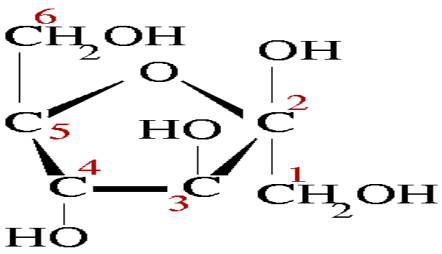


**Figure. II.1** : Structure chimique de fructose (β)

L'oligofructose (FOS) est le plus souvent utilisé dans la littérature pour décrire les inulines à chaîne courte où le degré de polymérisation (DP) ne dépasse pas 10. **[27]**

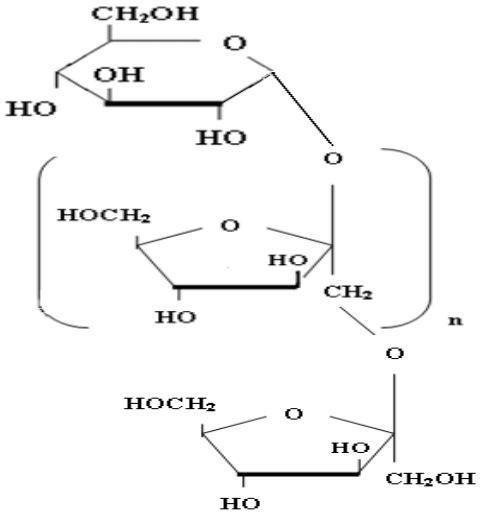


**Figure II.2** : Structure chimique de l'inuline avec n>10

Le degré de polymérisation de l'inuline dépend de nombreux facteurs, tels que la source végétale, le climat et les conditions de croissance, la maturité de la récolte et le temps de stockage après la récolte. **[26]**

L'inuline végétale a un DP relativement faible (au maximum < 200) qui dépend de l'espèce végétale, des conditions climatiques et de l'état physique de la plante. L'inuline présente dans les bactéries a un DP très élevé, allant de 10 000 à plus de 100 000 ; en outre, l'inuline bactérienne est 15 % plus ramifiée que l'inuline végétale. **[28]**

## *II.3. plantes productrices d'inuline*

Dans la nature, l'inuline est un mélange de polysaccharides composés de 20 à 30 chaînes d'unités de fructose (liées par des liaisons β-(2,1)-D-fructosyl fructose) de différentes longueurs avec une molécule de glucose à l'extrémité de chaque chaîne de fructose et produite par certaines plantes. Cependant, le fructane de l'ail a un squelette β-D-

fructosyl lié en (2,1) avec des chaînes latérales β-D-fructosyl liées en (2,6). L'inuline est utilisée par certaines plantes pour le stockage de l'énergie.

Les espèces végétales contenant de l'inuline se trouvent dans un certain nombre de familles mono et dicotylédones telles que les Liliacées, les Amaryllidacées, les Graminées et les Composacées. Chez les Liliacées, Amaryllidacées et Composacées, les inulines sont généralement stockées dans des organes tels que les bulbes, les tubercules et les racines tubéreuses.

Les deux espèces actuellement utilisées par l'industrie pour produire de l'inuline appartiennent aux Composacées : Le topinambour et la chicorée. Le topinambour présente de nombreuses caractéristiques de croissance souhaitables, telles que la tolérance au froid et à la sécheresse, la résistance au vent et au sable, la tolérance à la salinité, une forte fécondité et une grande résistance aux ravageurs et aux maladies. Il peut être cultivé dans les terres sablonneuses et les marais. Ces dernières années, le topinambour s'est révélé être l'un des principaux candidats à l'utilisation comme matière première pour la production industrielle de fructose et d'inuline. **[26]**

**Tableau II.1.** Certaines plantes productrices d'inuline

| Liliacée | Amaryllidacée | Graminée |
|---|---|---|
|  |  |  |
| Composacée | Topinambour | ***Chicorée*** |
|  |  |  |

## *II.4. Caractéristiques physico-chimiques de l'inuline*

### II.4.1. Solubilité

Les fructanes de type inuline ayant une faible masse moléculaire (DP≤10) sont soluble dans l'éthanol aqueux (80%) ou dans l'eau froid. Par contre, ceux qui présentent des DP élevés (DP>23) ne sont solubles que dans l'eau chaude et sont précipités par l'éthanol. **[29]**

French **[30]** a calculé les conformations théoriquement permises pour l'inuline en solution et a conclu que les conformations permises étaient similaires à celles du dextrane. Il a également noté que de nombreux facteurs influencent la structure privilégiée des oligosaccharides.

Vereyken et *al.* **[31]** ont également trouvé de nombreuses conformations possibles pour l'inuline dans leurs modèles, y compris une conformation en zigzag avec l'angle ω à 180° qui est restée stable dans leurs simulations. Cette multitude de conformations possibles montre la flexibilité moléculaire de l'inuline. Plusieurs rapports ont décrit le comportement d'une large gamme d'inulines en solution.

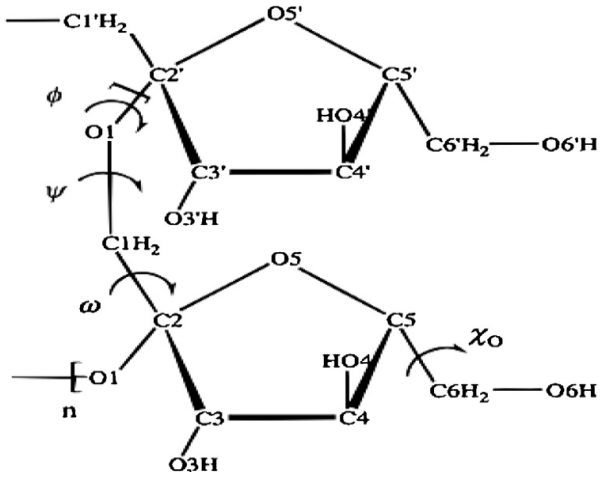



**Figure II.3** : Représentation du schéma de marquage atomique de la chaîne de l'inuline.

Les modèles et les mesures réalisés par Oka *et al.* **[32]** ainsi que Liu *et al.* **[33]** indiquent, qu'une conformation hélicoïdale est possible pour l'oligofructose d'inuline de DP 5. Cette conformation ne serait toutefois pas possible pour les inulines de poids moléculaire plus élevé en raison de l'encombrement stérique. Liu *et al.* **[33]** ont rapporté que pour les FOS d'inulines de taille allant jusqu'au DP 9, les structures hélicoïdales

simples ne sont pas la structure prédominante, tandis que Oka *et al.* **[32]** ont trouvé que pour un DP de 8 et plus, le squelette atteindrait une conformation plus rigide. Il semble donc qu'une structure tridimensionnelle organisée n'existe pas pour les oligosaccharides dont le DP est inférieur à environ 8 ou 9.

### *II.4.2. Gélification*

L'inuline présente des propriétés gélifiantes à un niveau élevé et forme une structure gélifiante après le cisaillement. Lorsque l'inuline est totalement dissoute dans l'eau ou dans tout autre milieu aqueux, avec un instrument de cisaillement tel qu'un mélangeur rotor-stator ou un homogénéisateur, elle donne lieu à la formation d'une structure crémeuse blanche qui peut facilement être ajoutée dans les aliments comme substitut de graisse jusqu'à 100 %. La propriété gélifiante de l'inuline est fortement influencée par la concentration en inuline, la quantité de matière sèche totale, les facteurs de cisaillement (par exemple la température, la durée, la vitesse ou la pression) et en outre par le type d'instrument de cisaillement utilisé ; cependant, elle n'est pas affectée par le pH (entre pH 4 et 9). En outre, la Microscopie cryo-électronique a révélé que ces gels d'inuline sont constitués d'une structure tridimensionnelle qui est normalement constituée de fragments d'inuline submicroniques non solubles dans l'eau. **[28]**

### II.4.3. Longueur de la chaîne

Comme de nombreux oligosaccharides, l'inuline est hétérodispersée. La chromatographie d'échange d'anions à haute performance (HPAEC) avec détection ampérométrique pulsée peut être utilisée pour déterminer le degré de polymérisation moyen en nombre ($DP_n$) et le DP moyen en poids ($DP_w$) de l'inuline. **[34]**

Dans de nombreux cas, aucune distinction n'est faite entre le $DP_w$ et le $DP_n$ (ni donc entre les masses moléculaires en poids et en nombre ($M_w$ et $M_n$), qui ne sont identiques que lorsque le matériau est monodispersé. Lorsqu'un degré de polymérisation n'est pas précisé, on suppose qu'il s'agit de la variété basée sur le nombre. Pour l'inuline, le $DP_n$ peut être converti en masse molaire moyenne à l'aide de la formule suivante :

$$M_n = 180 + 162 * (DP_n - 1)$$

La même chose peut être faite pour le $DP_w$ en remplaçant $DP_n$ par $DP_w$ et $M_n$ par $M_w$. **[35]**

### II.4.4. Hydrodynamique d'inuline

L'équation de Mark-Houwink définit la relation entre la viscosité intrinsèque ([ŋ]) et le poids moléculaire (M) des polymères, avec deux constantes (*k* et *a*)

$$[\eta] = k * M^{a}$$

La constante *a* dans cette équation est indicative de la forme du polymère dans la solution. La valeur *a* pour les sphères compactes est de 0, tandis qu'une valeur inférieure à 0,5 indique des structures ramifiées, une valeur comprise entre 0,5 et 0,9 est associée à un enroulement aléatoire, et une valeur supérieure à 2,0 à une structure en bâtonnets. Les valeurs intermédiaires de *a* représentent des formes intermédiaires. Les graphiques de la figure II.4 montrent des corrélations linéaires entre $M_w$ et les viscosités intrinsèques pour les espèces d'inuline avec un $M_w > 5 * 10^5 g/mol$ et pour les espèces avec un $M_w < 5 * 10^5 g/mol$. Ils ont constaté que $a$ = 0,71 pour les « petites » inulines, qui présentent une structure en spirale aléatoire, et $a$ = 0,02 pour les inulines de poids moléculaire élevé, indiquant une sphère compacte **[36]**.

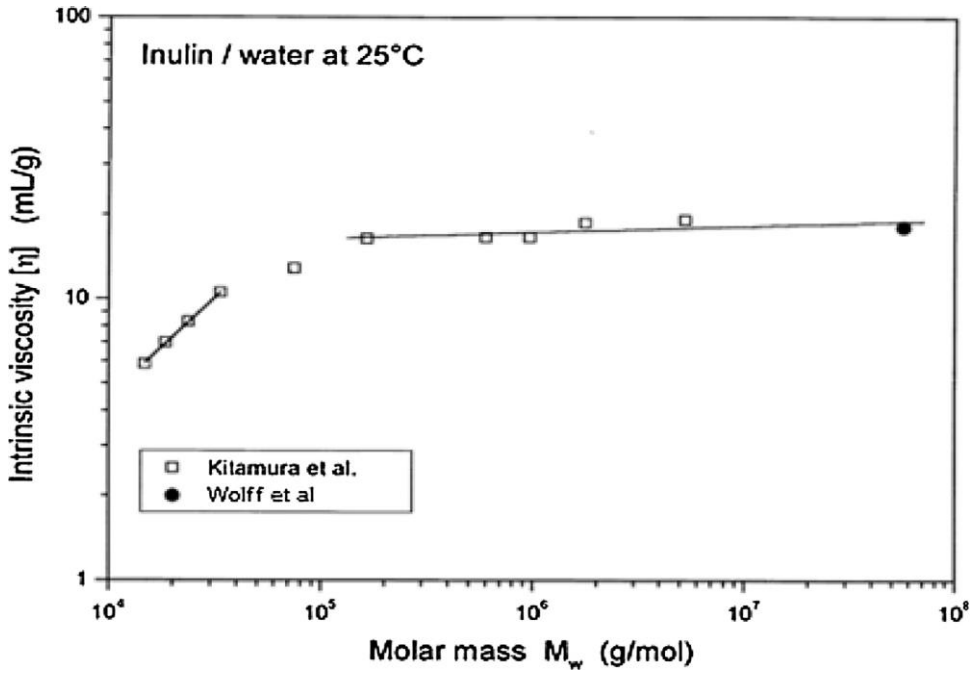



**Figure II.4** : Viscosité intrinsèque en fonction de la masse molaire. **[36]**

### II.4.5. Propriétés thermiques

#### *II.4.5.1. Température de transition vitreuse ($T_g$)*

La plupart des types d'inuline disponibles dans le commerce sont amorphes et peuvent donc être caractérisés par une température de transition vitreuse ($T_g$). Au-dessus de la température de transition vitreuse, la mobilité moléculaire est fortement augmentée et une cristallisation peut se produire. La température de transition vitreuse est intéressante lorsque la lyophilisation est utilisée comme processus de production, la $T_g$ ne doit pas être dépassée pendant la première partie de la lyophilisation (séchage primaire) afin d'obtenir un produit amorphe. L'équation de Fox-Flory décrit la relation entre le $T_g$ et le poids moléculaire. **[35]**

$$T_g = T_{g,\infty} - \frac{C}{M}$$

Avec $T_g$, étant la température de transition vitreuse à poids moléculaire infini, *M* le poids moléculaire et *C* une constante.

#### *II.4.5.2. Sorption de vapeur*

Sachant que l'eau peut fortement réduire la $T_g$ d'un mélange, il est important de déterminer la sorption d'eau de l'inuline en fonction de l'humidité relative de l'atmosphère. En utilisant la sorption dynamique de vapeur, l'absorption d'eau par plusieurs inulines et du tréhalose (figure II.4) en fonction de l'humidité relative (HR) a été étudié par Hinrichs *et al.* **[37]**. Ils ont trouvé que la sorption de l'eau était similaire pour toutes les tailles d'inuline et similaire à celle d'autres hydrates de carbone amorphes. Le tréhalose a cristallisé à une humidité relative supérieure à 50%, tandis que les échantillons d'inuline sont restés amorphes à l'échelle de temps des expériences de sorption dynamique de vapeur (heures), même s'ils ont tous dépassé leur $T_g$ pendant la mesure. Cela montre que l'inuline cristallise moins facilement que le tréhalose. L'exposition accidentelle (à court terme) à une humidité relative élevée de l'inuline amorphe n'entraîne donc pas nécessairement une cristallisation immédiate.

Dans une autre étude où l'inuline a été stockée à des humidités relatives contrôlées pendant des semaines **[38]**, une cristallisation a été constatée, les conséquences de la sorption d'humidité pour des échantillons d'inuline présentant différents degrés de cristallinité. En fonction du poids moléculaire de l'inuline, les particules amorphes ont

fusionné à une HR de >56%, ou à une HR supérieure à >75% à 20°C (ce qui correspond à une absorption d'eau de 12-15 g/100 g d'inuline sèche à une HR de >75%). Il en résulte un mottage, c'est-à-dire un collage des particules de poudre, ce qui réduit la fluidité. **[39]**

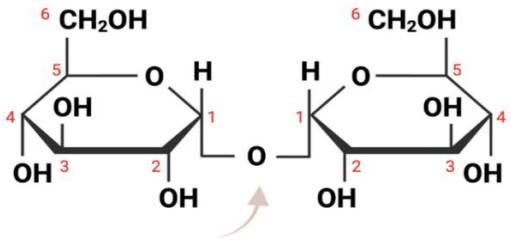



**Figure II.5** : Structure de tréhalose

### *II.4.5.3. Température de fusion($T_f$)*

La température de fusion d'une inuline synthétique produite par voie enzymatique, n'était que de 183ºC malgré sa taille beaucoup plus important ($70 \times 10^6$ g/mol), ce qui est courant pour les polymères. L'inuline a commencé à se dégrader après la fusion, lorsqu'elle est chauffée à plus de 200-225ºC. **[40]**

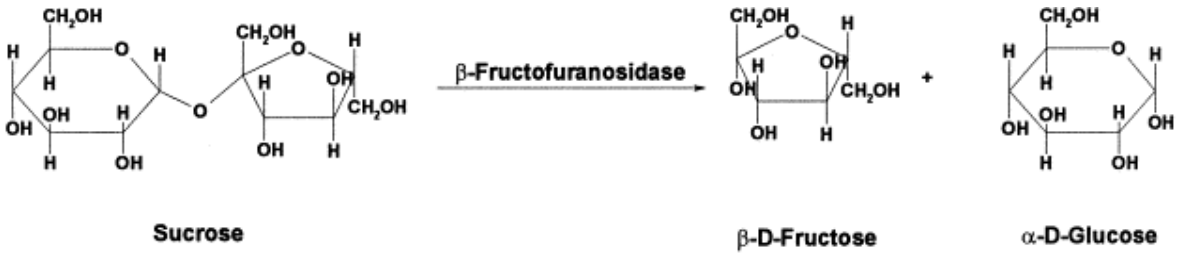
L'hémi-hydrate d'inuline (produit par sorption de l'eau de l'inuline amorphe) possède une température de fusion d'environ 155-160°C et le mono-hydrate (cristaux d'ensemencement) avait un point de fusion entre 170 et 180°C. **[41]**

## *II.5. Dégradation de l'inuline*

Cette réaction est catalysée par différents types de fructanes-β-fructosidases, classées selon leur activité. Il s'agit généralement de glycoprotéines dont la partie glycannique est constitué essentiellement de mannose. Alors **[42]** :

- La β-D-fructofuranosidase (EC 3.2.1.26) qui hydrolyse le saccharose (Figur II.6)
- L'exo-β-D-fructosidase (EC 3.2.1.80) qui peut couper la liaison β (2→1) entre les résidus terminaux de fructose ou consiste en une extrémité de fructane qui est exo-inulinase hydrolysé.
- La 2,1-β-D- fructane fructanohydrolase (EC 3.2.1.7) également appelée endoinulinase. Elle agit sur les liaisons internes des chaînes d'inuline pour former des oligofructanes.

Certains microorganismes sont capables de produire une enzyme extracellulaire qui catalyse la formation de cycloinulooligosaccharides, ce sont des fructanetransférases dont les produits de réactions ont été mis en évidence pour la première fois en 1989 chez *Bacillus Circulans* **[43]**.




**Figur II.6** : Dépolymérisation de saccharose

## *II.6. Effets de l'inuline sur l'organisme*

Ces molécules sont également étudiées pour leur effet bénéfique sur le corps humain et sont de plus en plus étudiées dans le domaine de la santé. L'inuline peut être assimilée à des "fibres alimentaires" hypocaloriques. En fait, chez l'homme, presque aucune hydrolyse ni modification enzymatique ne se produit dans l'estomac ou l'intestin grêle. En revanche, une fois arrivé dans le colon, il est complètement dégradé et fermenté par des micro-organisme, produisant principalement des acides gras volatils, ce qui peut d'ailleurs être une cause de flatulence. **[42]**

Des études cliniques menées avec des régimes à base de FOS ont montré d'autres effets parmi lesquels on trouve : **[42]**

- Diminution de la constipation
- Diminution des substances putréfactives dans le colon
- Diminution des taux du glucose et d'insuline dans le sang
- Abaissement du taux de cholestérol total dans le sang et des triglycérides

## *II.7. Applications de l'inuline*

### II.7.1. Application dans le domaine médical

Dans le domaine de la santé, l'inuline est connue depuis longtemps en tant que test de diagnostic de la fonction rénale, vues qu'elle n'est pas toxique pour l'organisme, elle est injectée par voie intraveineuse. Le fait qu'elle ne soit pas métabolisée permet de la quantifier dans le plasma sanguin et dans les urines afin d'évaluer le taux de filtration du rein. **[44]**

On peut aussi conjuguer l'inuline à des médicaments, ce qui leur permet de garder une stabilité chimique et biologique pour que cet ensemble facilite le transfert vers le site d'action de la molécule médicamenteuse. **[45]**

### II.7.2. Application dans le domaine non-alimentaire

Le fructose, l'inuline ou les jus non purifiés de racines ou de tubercules, peuvent être utilisés dans de nombreuses voies différentes. Par exemple, on peut les considérer comme des précurseurs dans la production de certains produits chimiques tels l'éthanol **[32]**. L'hydrogénolyse de l'inuline peut aussi aboutir à la formation de glycérol ou de mannitol dont les applications industrielles sont multiples. **[46]**

### II.7.3. Application dans le domaine alimentaire

L'inuline et ses oligofructoses se présentent sous forme de sirop ou de poudre et possèdent des propriétés techniques très proches des sirops de sucre et de glucose. Ils possèdent également des propriétés fonctionnelles intéressantes c'est-à-dire **[42]** :

- Goût neutre et sucré, mais le pouvoir sucrante est de 30 à 100, inferieure au saccharose
- Il existe la possibilité de remplacer les graisses par des dispersions stables appelées crème sa valeur calorique 18 à 36 fois plus faible que celle des graisses c'est-à-dire entre 1 et 2,1 KJ/g.

Ils peuvent ainsi trouver une place de choix en remplacement du sucre ou des graisses, comme par exemple dans le chocolat, les biscuits, les glaces, les produits laitiers, certaines préparations pharmaceutiques ainsi que les produits allégés nutritionnels. **[47]**

# Chapitre III

# Matériel et méthodes

# Chapitre III : Matériel et méthodes

## *III.1. Introduction*

Le but de ce travail est de formuler une émulsion stable à base de l'huile végétale de nigelle (HVN) et l'inuline (IN), et stabilisée par un tensioactif (Tween 80), en utilisant un plan d'expérience.

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire chimie 06 du hall technologie de pôle universitaire d'OUEZRA.

## *III.2. Matériel et produits utilisés*

### III.2.1. Matériel utilisés

Le différent matériel utilisé lors de cette étude expérimentale est rassemblés dans le Tableau III.1.

**Tableau III.1 :** Matériel utilisés

| Matériels | Fournisseurs |
|---|---|
| Agitateur / plaque chauffante | Heidolph |
| Balance | DENVER |
| Spectrophotomètre UV-visible | Tensor (BRUKNER) |
| Viscosimètre | HAAKE – Viscotester VT5R |
| Homogénéiser (ultra-turrax) | IKA® T18 basic |
| Centrifugeuse | Hettich |
| Microscope optique | OPTECH |

### III.2.2. Produits chimiques

Les produits chimiques nécessaires dans cette étude expérimentale sont présentés dans le tableau III.2.

**Tableau III.2 :** Produits utilisés

| Nom | Formule générale | M (g/mol) |
|---|---|---|
| Inuline | $C_{6n}H_{10n+2}O_{5n+1}$ | 4140 |
| DPPH | $C_{18}H_{12}N_5O_6$ | 394,32 |
| Ethanol | $C_2H_6O$ | 46,07 |
| Acide férulique | $C_{10}H_{10}O_4$ | 194,18 |
| Tween 80 | $C_{64}H_{124}O_2$ | 1310 |
| Réactif de Folin-Ciocalteu | $C_{10}H_5NaO_5S$ | 260.20 |

### III.2.3. Huile végétale de Nigelle

La nigelle cultivée (*Nigelle Sativa* L., NS) ou la graine noire est une plante médicinale bien connue des systèmes de médecine traditionnelle, ainsi qu'une épice et un conservateur alimentaire. Cette plante pousse communément au Moyen-Orient, en Europe de l'Est et de l'Ouest et en Asie centrale. Les graines de nigelle sont de couleur noire et ont un goût légèrement amer. L'enquête nutritionnelle sur les graines de nigelle a montré qu'ils constituent une bonne source de sodium, de zinc, de calcium, de fer, de magnésium, de potassium et de cuivre **[48]**.

Des études antérieures sur la nigelle cultivée ont porté sur les effets pharmacologiques in vitro et in vivo de ses constituants. Les constituants des graines de la nigelle cultivée ont présenté des propriétés thérapeutiques remarquables, notamment des propriétés antioxydantes, antiparasitaires, anticancéreuses, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, analgésiques et antipyrétiques, qui ont été associées à ses principes actifs tels que le thymol, le carvacol, la négillicine, la nigellone, la nigellidine, la nigellimine Noxide thymohydroquinone, la thymoquinone, la dithymoquinone et l'a-éhédrine. **[48]**

L'huile végétale de nigelle (HVN) constitue la phase huileuse des émulsions préparées lors de cette étude. Pour cela, une caractérisation de cette huile a été réalisée en déterminant son pouvoir réducteur et son activité anti-oxydante.

## *III.3. Caractérisation de l'HVN*

Avant de l'utiliser, l'huile végétale doit être centrifugée 3000 tr/min pendant 10 min pour éliminer les impuretés. Par la suite, l'huile végétale de nigelle purifiée est conservée dans un flacon ambré propre à une température de 4ºC.




**Figure III.1** : Centrifugation de l'HVN

### III.3.1. Activité antioxydante de HVN

L'activité antioxydant in-vitro a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH (1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl) **[49]**.

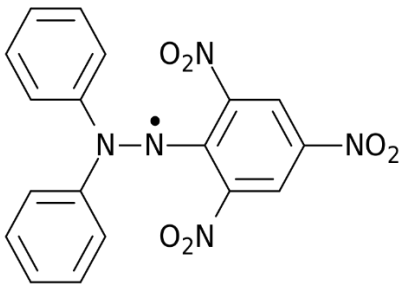



**Figure III.2** : 1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl (radicale libre)

Le 1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl (DPPH) est un radical libre stable en raison de la délocalisation de l'électron de réserve sur l'ensemble de la molécule, de sorte que les molécules ne se dimérisent pas, comme c'est le cas pour la plupart des autres radicaux libres. La délocalisation est également à l'origine de la couleur violette profonde **[50]**.

Lorsqu'une solution de DPPH est mélangée une autre solution contenant une substance qui peut donner un atome d'hydrogène, cela donne lieu à la forme réduite (figure III.3) avec la perte de cette couleur violette (bien que l'on s'attende à ce qu'il y ait une couleur jaune pâle résiduelle due au groupe picryle toujours présent). En représentant le radical DPPH par $Z^{\bullet}$ et la molécule donneuse par AH, la réaction primaire est la suivante **[50]** :

$$Z^{\bullet} + AH = ZH + A^{\bullet}$$

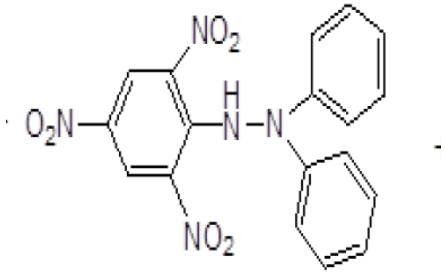


**Figure III.3 :** 1,1-Diphenyl-2-picryhydrazyl (non radicalaire)

***Méthode de dosage***

On prépare au début la solution de DPPH par dissolution de 39,4 mg de DPPH dans 100 mL d'éthanol, puis on laisse la solution sous agitation jusqu'à la dissolution totale de DPPH. Une fois la solution est préparée, on la conserve à 4°C et à l'abri de lumière jusqu'au moment d'utilisation.

La deuxième étape consiste à la préparation des dilutions de l'huile végétale de Nigelle, de concentrations allant de 1 à 6 µL/mL, par l'ajoute de l'éthanol à des volumes précis de l'huile. Le tableau III.3 regroupe les dilutions préparées

**Tableau III.3 :** Dilutions préparées de l'huile végétale de Nigelle

| Solution | $S_1$ | $S_2$ | $S_3$ | $S_4$ | $S_5$ | $S_6$ |
|---|---|---|---|---|---|---|
| C (µl/ml) | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 |

Afin de déterminer l'activité antioxydante de l'huile végétale de nigelle, 1mL de la solution de DPPH est ajouté à 3 mL de solution d'HVN dans un tube à essais enrobé par le papier aluminium, le mélange est conservé à la température ambiante et à l'obscurité

pendant 30 min. L'absorbance est mesuré à la longueur d'onde de 517 nm et le pourcentage d'inhibition du DPPH (I%) est calculé par la formule suivante **[49] :**

$$I\ (\%) = \frac{A_B - A_E}{A_B} * 100$$

Avec :

$A_B$ : Absorbance du blanc ;

$A_E$ : Absorbance de l'échantillon.

Une courbe d'étalonnage à base de l'acide férulique est réalisée en utilisant des concentrations en acide férulique variant entre $2.10^{-2}$ et $10^{-1}$ mg/mL (tableau III.4)

**Tableau III.4** : Concentrations de l'acide férulique utilisées

| Tube | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
|---|---|---|---|---|---|
| $C_{AF}$ (mg/mL) | 0.02 | 0.04 | 0.06 | 0.08 | 0.1 |

### III.3.2. Pouvoir réducteur

Plusieurs méthodes analytiques peuvent être utilisées pour la quantification des polyphénols totaux. L'analyse par le réactif de Folin-Ciocalteu est la plus utilisée. Le réactif est formé d'acide phosphotungestique $H_3PW_{12}O_{40}$ et d'acide phosphomolybdique $H_3PMo_{12}O_4$, qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en oxydes bleus de tungstène ($W_8O_{23}$) et de molybdène ($Mo_8O_3$). Ce qui nous aide à doser ces composés à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à une longueur d'onde de 760 nm **[51]**.

La détermination du pouvoir réducteur des polyphénols totaux existant au niveau de l'HVN est réalisée en utilisant le protocole proposé par Liu *et al.* avec quelques modifications:

1mL de réactif Folin (10%) est ajouté à 225µL d'échantillon. Après 4 min, 800µL d'une solution de carbonates de sodium ($Na_2CO_3$, 75mg/mL) est ajoutée et le mélange est laissé à l'obscurité pendant 2h avec une agitation intermittente, l'absorbance est mesurée à 760nm contre un blanc préparé à partir de l'éthanol pure sans l'HVN dans les mêmes conditions.

Une courbe d'étalonnage à base de l'AF est réalisée en utilisant des concentrations en AF variant entre 0.02 et 0.1 mg/mL.

## *III.4. Formulation des émulsions à base de l'HVN*

Cette partie a pour objectif la formulation d'une émulsion stable à base de l'huile végétale de nigelle, de l'inuline et le Tween 80 en utilisant un Plan d'expérience D-optimal.

### III.4.1. Plan d'expérience D-Optimal

Un plan d'expérience constitue une stratégie de planification d'expériences afin d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manières efficaces et économique. La méthodologie des plans d'expériences est basée sur le fait qu'une expérience convenablement organisée, conduira fréquemment à une analyse et à une interprétation statistique relativement simple des résultats. L'intérêt majeur des plans d'expérience réside dans le fait qu'ils permettent d'optimiser le nombre d'expérimentations à réaliser lors de la phase d'essais, en déterminant au préalable les réels facteurs ou combinaisons de facteurs influents sur la réponse du système à étudier **[53]**.

Si on veut la plus petite variance possible sur l'ensemble des coefficients, il faut que les termes diagonaux de la matrice de dispersion soient eux-mêmes les plus petits possibles. On obtient ce résultat en maximisant le déterminant de la matrice. Le critère correspondant s'appelle le critère de D-optimalité. Le choix de l'emplacement des points expérimentaux nécessite alors un logiciel de plans d'expériences. Il suffit de préciser le nombre d'expériences que l'on désire effectuer et le modèle a priori. Le logiciel calcule alors, grâce à un algorithme d'échange, le plan le mieux adapté à l'étude **[54]**.

Dans notre étude, l'optimisation de la formulation a été réalisée en utilisant le plan d'expérience D-optimal à trois facteurs ($X_1$, $X_2$, $X_3$), et à deux niveaux (-1, +1). Les niveaux de chaque variable sont représentés dans le tableau III.5.

**Tableau III.5** : Variables du Plan D-optimal

| | | Abréviation | Unité | Niveau (-1 ; +1) |
|---|---|---|---|---|
| Facteurs | Inuline | $X_1$ | % | 7 ; 15 |
| | Huile végétale | $X_2$ | % | 5 ; 10 |
| | Tensio-actif | $X_3$ | % | 0.25 ; 2 |
| Réponse | Indice de crémage | Y | % | |

L'estimation d'un modèle mathématique est souvent gérée par un outil informatique, dans notre cas, on utilise le logiciel MODDE 6. Une réponse est prise en considération: Indice de crémage. Un ensemble de 22 formulations ont été générées à l'aide du plan factoriel D-optimal. La matrice obtenue et représentée par le tableau III.6.

**Tableau III.6** : Matrice des expériences

| Exp No | Exp Name | Run Order | huile de nigelle (%) | Inuline (%) | Tween (%) | indice de crémage |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | E1 | 8 | 5 | 7 | 0,25 | |
| 2 | E2 | 9 | 10 | 7 | 0,25 | |
| 3 | E3 | 13 | 5 | 7 | 2 | |
| 4 | E4 | 15 | 10 | 7 | 2 | |
| 5 | E5 | 18 | 5 | 15 | 2 | |
| 6 | E6 | 3 | 10 | 15 | 2 | |
| 7 | E7 | 11 | 5 | 15 | 0,833333 | |
| 8 | E8 | 6 | 5 | 15 | 1,41667 | |
| 9 | E9 | 20 | 5 | 9,66667 | 0,25 | |
| 10 | E10 | 2 | 5 | 12,3333 | 0,25 | |
| 11 | E11 | 22 | 5 | 9,66667 | 2 | |
| 12 | E12 | 21 | 10 | 15 | 0,833333 | |
| 13 | E13 | 14 | 10 | 12,3333 | 0,25 | |
| 14 | E14 | 16 | 6,66667 | 15 | 0,25 | |
| 15 | E15 | 5 | 8,33333 | 15 | 0,25 | |
| 16 | E16 | 7 | 8,33333 | 15 | 2 | |
| 17 | E17 | 12 | 10 | 11 | 1,125 | |
| 18 | E18 | 17 | 7,5 | 7 | 1,125 | |
| 19 | E19 | 1 | 7,5 | 11 | 2 | |
| 20 | E20 | 10 | 7,5 | 11 | 1,125 | |
| 21 | E21 | 4 | 7,5 | 11 | 1,125 | |
| 22 | E22 | 19 | 7,5 | 11 | 1,125 | |

### III.4.2. Préparation des dispersions de l'inuline

La phase aqueuse des émulsions gélifiées préparées est constituée majoritairement des dispersions de l'inuline dans l'eau distillées à différentes concentrations.

Les dispersions de l'inuline sont formés d'un réseau de petites cristallites d'environ 100 nm de diamètre qui s'agrègent pour former des grappes plus grandes de 1 à 5µm, qui

emprisonnent une grande quantité d'eau dans le réseau. Les propriétés de ce réseau ressemblent à celles d'un réseau de cristaux de graisse dans l'huile **[55]**.

Les dispersions de l'inuline à différentes concentrations sont préparées en suivant les étapes ci-dessous :

- Dans un bécher, une quantité suffisante de l'inuline a été prédispersée dans 100mL de l'eau distillée à la température ambiante sous agitation pendant 2 min, le mélange est laissé sous agitation modérée à 250 tr/min pendant 5min.
- Par la suite, une homogénéisation à haute pression en utilisant l'ultra-turrax (vitesse = 10000 tr/min) pendant 15 min a été effectuée.
- Les dispersions d'inuline ont été conservées à température ambiante pendant toute la nuit avant l'utilisation.

### III.4.3. Formulation des émulgels à base de l'HVN

Tout d'abord pour formuler une émulsion il devait y avoir deux phase non miscible une phase hydrophile et l'autre est lipophile, et on utilise un tensioactif.

La premier phase est la phase hydrophile qui contient la quantité nécessaire d'inuline et nous y ajoutons le tensio-actif (TA), laisser le mélange sous agitation réduite (250 rpm) pendant 5min pour garantir que la totalité du TA soit solubilisé.

La deuxième étape pour la préparation des émulsions consiste à introduire la phase huileuse goutte à goutte dans phase aqueuse tout en agitant à une vitesse modérée. Cette émulsion a été ensuite agitée à l'aide d'un ultra-turax à 10000tr/min pendant 15min pour assurer l'homogénéisation des différents composants (figure III.4).



**Figure III.4** : Préparation d'une émulsion

### III.4.4. Mesure de l'indice de crémage

La stabilité relative des émulsions simples d'huile dans l'eau est évaluée par l'étude de la stabilité au crémage. L'indice de crémage fournit des informations sur le degré d'agrégation des gouttelettes dans une émulsion : plus l'agrégation est importante, plus les flocs sont gros et plus le crémage est rapide. Le crémage est le résultat de la gravité, lorsque la densité de la phase dispersée est inférieure à celle du milieu, le crémage se produit et l'émulsion idéale devrait avoir un indice de crémage de 0 % **[55]**.

Dans une émulsion monodispersée, la couche aqueuse est généralement transparente car elle ne contient pas de gouttelettes qui diffusent la lumière, la couche d'émulsion a un aspect similaire à celui de l'émulsion originale (qui dépend donc de la concentration initiale en gouttelettes), et la couche de crème est optiquement opaque car la concentration en gouttelettes est suffisamment élevée pour provoquer une diffusion appréciable de la lumière **[56]**.

$$IC\ (\%) = \frac{H_s}{H_e} * 100$$

Où $H_e$ est la hauteur totale de l'émulsion et $H_s$ la hauteur de la couche aqueuse

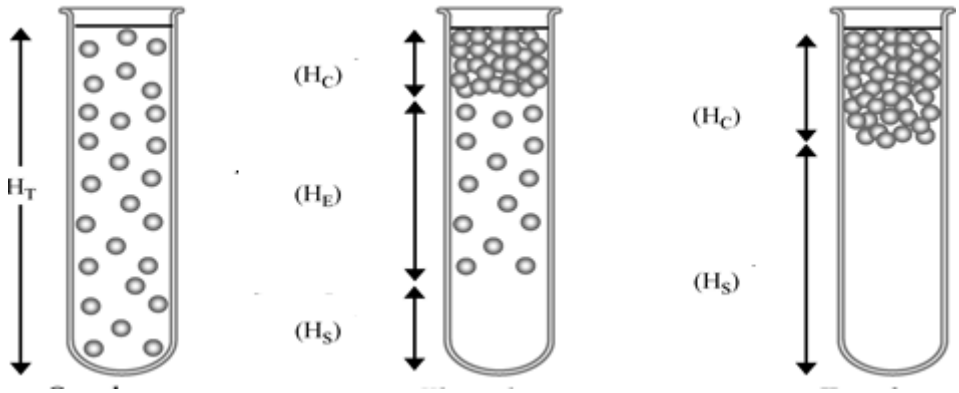



**Figure III.5** : Représentation schématique de crémage

La détermination de l'indice de crémage dans notre étude est réalisée par centrifugation des émulsions à 3600 tr/min pendant 30min. par la suite l'indice de crémage est calculé selon la formule citée ci-dessus.

## *III.5. Caractérisation de la formule optimale*

Une fois la formule optimale de l'émulgel est obtenue, la caractérisation suivante est réalisée :

### III.5.1. Comportement rhéologique

Le but de cette étude est déterminé le comportement rhéologique de l'inuline seul et en émulsion. Pour mesurer la viscosité on a utilisé un viscosimètre à tige à des vitesses de rotation allant de 6 à 60 tr/min à température ambiante.



**Figure III.6** : Viscosimètre à tige

### III.5.2. Aspect microscopique

Une analyse microscopique sur l'inuline en suspension et la formule optimale est réalisée afin de déterminer la dispersion des gouttelettes d'huile dans la phase aqueuse ainsi que leurs tailles.



**Figure III.7 :** Microscopique optique

### III.5.3. Stabilité au cours du stockage

Dans le but d'étudier la stabilité de l'émulsion au cours du stockage à des conditions différentes de température et d'humidité, la formule optimale est transférer dans trois tube à essais en verre. Les trois tube ont été conservé pendant 30 jours à trois températures différentes :

- le premier à été consérvé à la température ambiante
- le seccond à basse température (4˚C)
- le dernier tube dans une température de 40ºC.

Pendant le stockage, on a vérifié s'il existe une séparation de phase, une colonisation microbienne ou changement de couleur qui sont des signe de dégradation de l'émulsion .

# Chapitre IV

Résultats et discussion

# Chapitre IV : Résultats et discussion

## IV.1. Introduction

Ce chapitre présente les résultats obtenus ainsi que toutes les interprétations concernent les trois parties de cette étude notamment l'activité anti-oxydante et le pouvoir réducteur de l'huile végétale de Nigelle, la composition de l'émulsion optimale ainsi que l'influence des différents facteurs étudiés sur la stabilité de l'émulgel formulé.

## IV.2. Caractérisation de l'HVN

La purification de l'huile végétale de nigelle par centrifugation a été réalisée pour éliminer tous les impuretés solides à une vitesse de 3000 tr/min.



**Figure IV.1 :** HVN après la centrifugation.

### IV.2.1. Evaluation de l'activité antioxydante

La détermination de l'activité antioxydante de l'huile de Nigelle a été effectuée en utilisant le protocole cité dans la section III.3.1 du chapitre précédent. Les résultats obtenus sont présenté dans les figures IV.2 et IV.3.

En comparant les deux graphes sur la figure IV.3, on remarque que le taux d'inhibition augmente de façon linéaire avec l'augmentation de la concentration de l'huile végétale de nigelle et de l'acide férulique, ce dernier présente un taux d'inhibition supérieur à celui de l'huile. La concentration de l'acide férulique qui donne un pourcentage d'inhibition de

50% des radicaux libres (IC 50) est calculée à partir de la courbe de tendance présentée sur la figure IV.3, la valeur obtenue est de 0.066 µl/ml. De même l'IC 50 de l'huile végétale de nigelle est de 0.7 µl/ml. D'après ces résultats, on constate que l'huile de nigelle possède une bonne activité anti-oxydante mais elle reste inférieure 10 fois à celle de l'acide férulique.

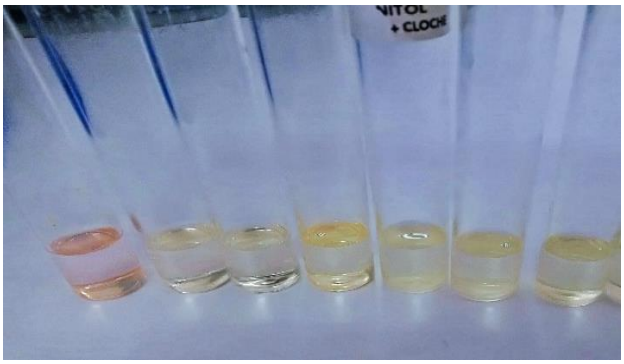


**Figure IV.2 :** Activité anti-oxydante de l'HVN

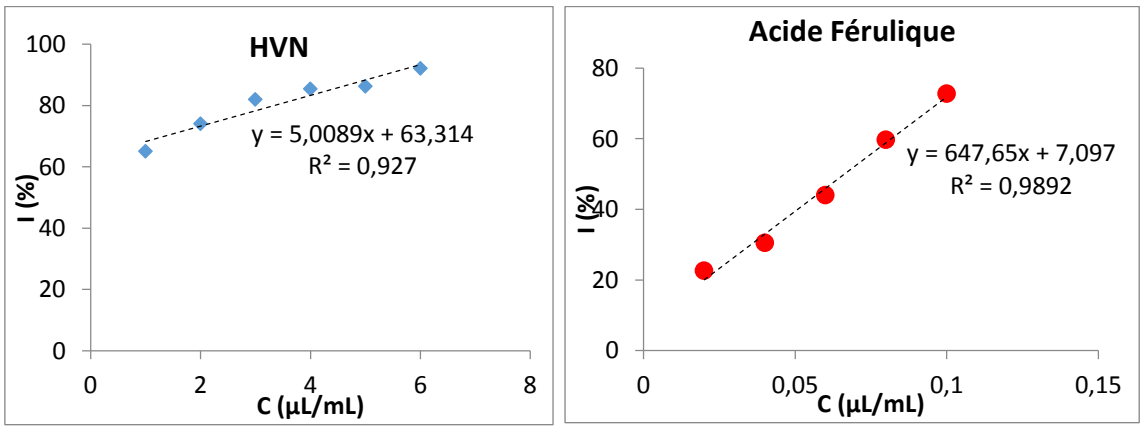



**Figure IV.3** : Variation du taux d'inhibition en fonction de la concentration de : l'huile de Nigelle à gauche et l'acide férulique à droite

### IV.2.2. Evaluation du pouvoir réducteur

Le calcul du pouvoir réducteur de l'huile végétale de nigelle est réalisé en suivant le protocole cité dans la section III.3.2. Les résultats trouvés sont présenté sur la figure IV.4.

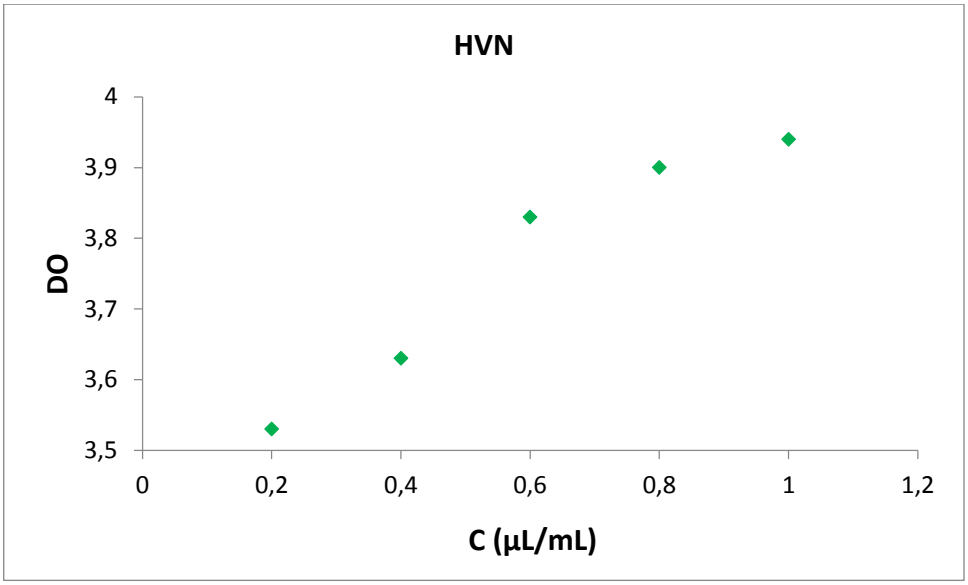



**Figure IV.4 :** Variation de la DO en fonction de la concentration de l'huile de Nigelle

## *IV.3. Formulation des émulsions gélifiées à base de l'huile de nigelle*

Le but de cette partie est de formuler une émulsion stable en utilisant l'huile de nigelle comme phase huileuse et la phase dispersante est constituée de l'inuline et le Tween 80 comme émulsifiant. L'optimisation de la formulation est décrite en détail dans le chapitre précédent (sections III.4.2 et III.4.3). Le tableau IV.1 présente les différentes formules préparées de volume de 30 mL.

Toutes les formulations ont été soumises au test de stabilité par résistance à la centrifugation à une vitesse de 3600 tr/min pendant 30min les résultats obtenus sont donnés dans le Tableau IV.2

**Tableau IV.1 :** Volume de différents constituants des émulsions formulées

| Exp. No | HVN | | IN | | TA | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | % | V (mL) | (%) | V (mL) | % | V (mL) |
| 1 | 5 | 1,5 | 7 | 28,42 | 0,25 | 0,075 |
| 2 | 10 | 3 | 7 | 26,9 | 0,25 | 0,075 |
| 3 | 5 | 1,5 | 7 | 27,9 | 2 | 0,6 |
| 4 | 10 | 3 | 7 | 26,4 | 2 | 0,6 |
| 5 | 5 | 1,5 | 15 | 27,9 | 2 | 0,6 |
| 6 | 10 | 3 | 15 | 26,4 | 2 | 0,6 |
| 7 | 5 | 1,5 | 15 | 28,25 | 0,83 | 0,25 |
| 8 | 5 | 1,5 | 15 | 28,07 | 1,41 | 0,424 |
| 9 | 5 | 1,5 | 9,66 | 28,42 | 0,25 | 0,075 |
| 10 | 5 | 1,5 | 12,33 | 28,42 | 0,25 | 0,075 |
| 11 | 5 | 1,5 | 9,66 | 27,9 | 2 | 0,6 |
| 12 | 10 | 3 | 15 | 26,75 | 0,83 | 0,25 |
| 13 | 10 | 3 | 12,33 | 26,925 | 0,25 | 0,075 |
| 14 | 6,66 | 2 | 15 | 27,92 | 0,25 | 0,075 |
| 15 | 8,33 | 2,49 | 15 | 27,42 | 0,25 | 0,075 |
| 16 | 8,33 | 2,49 | 15 | 26,9 | 2 | 0,6 |
| 17 | 10 | 3 | 11 | 26,66 | 1,125 | 0,337 |
| 18 | 7,5 | 2,25 | 7 | 27,41 | 1,125 | 0,337 |
| 19 | 7,5 | 2,25 | 11 | 27,15 | 2 | 0,6 |
| 20 | 7,5 | 2,25 | 11 | 27,41 | 1,125 | 0,3375 |
| 21 | 7,5 | 2,25 | 11 | 27,41 | 1,125 | 0,3375 |
| 22 | 7,5 | 2,25 | 11 | 27,41 | 1,125 | 0,3375 |

### IV.3.1. Analyse statistiques

Les résultats de l'indice de crémage des différentes formulations sont rassemblés dans le tableau ci-dessous.

**Tableau IV.2 :** Résultats de l'indice de crémage des différentes formulations

| Formulation | Facteurs | | | Réponse |
|---|---|---|---|---|
| | **HVN (%)** | **Inuline (%)** | **TA (%)** | **indice de crémage** |
| E1 | 5 | 7 | 0,25 | 7,14 |
| E2 | 10 | 7 | 0,25 | 15 |
| E3 | 5 | 7 | 2 | 0 |
| E4 | 10 | 7 | 2 | 0 |
| E5 | 5 | 15 | 2 | 4,28 |
| E6 | 10 | 15 | 2 | 14,28 |
| E7 | 5 | 15 | 0,83 | 0 |
| E8 | 5 | 15 | 1,41 | 0 |
| E9 | 5 | 9,66 | 0,25 | 2,56 |
| E10 | 5 | 12,33 | 0,25 | 16,43 |
| E11 | 5 | 9,66 | 2 | 0 |
| E12 | 10 | 15 | 0,83 | 8,33 |
| E13 | 10 | 12,33 | 0,25 | 20 |
| E14 | 6,66 | 15 | 0,25 | 7,14 |
| E15 | 8,33 | 15 | 0,25 | 15,38 |
| E16 | 8,33 | 15 | 2 | 10,66 |
| E17 | 10 | 11 | 1,125 | 18,75 |
| E18 | 7,5 | 7 | 1,125 | 0 |
| E19 | 7,5 | 11 | 2 | 8,33 |
| E20 | 7,5 | 11 | 1,125 | 15 |
| E21 | 7,5 | 11 | 1,125 | 15 |
| E22 | 7,5 | 11 | 1,125 | 15 |

Le tracé récapitulatif des résultats traités par la méthode de régression linéaire (MLR) est représenté par la figure IV.5

Le pourcentage de la variation de la réponse expliquée par le modèle $R^2$ : est une mesure de l'ajustement, c'est-à-dire de la façon dont le modèle s'adapte aux données.

Le pourcentage de variance de la réponse que le modèle prédit sur la base de la validation croisée $Q^2$, indique dans quelle mesure le modèle prédit les nouvelles données. Un modèle utile doit avoir un $Q^2$ élevé. Nous obtiendrons un $Q^2$ faible en cas de mauvaise répétabilité

(mauvais contrôle de l'erreur expérimentale) et/ou de mauvaise validité du modèle (modèle incorrect).

Il existe de nombreuses causes de manque d'adéquation qui se traduisent par une faible « validité du modèle ». Lorsque la barre de validité du modèle est supérieure à 0,25, il n'y a pas de manque d'ajustement du modèle (l'erreur du modèle est du même ordre que l'erreur pure). Une barre de validité du modèle de 1 représente un modèle parfait. Lorsque la validité du modèle est inférieure à 0,25, le manque d'ajustement est important et l'erreur du modèle est nettement supérieure à l'erreur pure (reproductibilité).




**Figure IV.5 :** Tracé récapitulative des résultats

Lorsque la barre de reproductibilité est à 1, l'erreur pure est à 0, ce qui signifie que dans les mêmes conditions, les valeurs de réponse sont identiques. Si la reproductibilité est inférieure à 0,5 ; cela signifie que l'erreur pure est importante, que le contrôle du dispositif expérimental est faible (niveau de bruit élevé) et que la validité du modèle ne peut être évaluée. Cela se traduit par des $R^2$ et $Q^2$ faibles. La répétabilité doit être améliorée.

Dans notre étude, le coefficient de corrélation $R^2$ est égal à 0,95 ; la valeur du coefficient de détermination ajustée $R^2_{ajustée}$ est de 0.905 ; $Q^2$=0,84 ; et une validité de 0,96. Ces résultats confirment que le modèle est bon et reproductible.

### IV.3.2. Analyse ANOVA

L'analyse de variance ANOVA est utilisée pour étudier les effets des paramètres d'entrés (quantités de : HVN, IN, TA) sur la réponse étudiée (indice de crémage). Les statistiques sont représentées par le tableau ci-dessous :

**Tableau IV.3 :** Résultats de l'ANOVA pour l'indice de crémage.

| **Indice de crémage** | **DF** | **SS** | **MS** | **F** | **P** | **SD** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Variance | | | |
| Total | 20 | 2446,6 | 122,33 | | | |
| Constant | 1 | 1612,27 | 1612,27 | | | |
| | | | | | | |
| Total corrigé | 19 | 834,326 | 43,9119 | | | 6,62661 |
| Régression | 9 | 792,757 | 88,0841 | 21,1896 | **0,000** | 9,38531 |
| Résiduel | 10 | 41,5695 | 4,15695 | | | 2,03886 |
| | | | | | | |
| Manque d'ajustement | 8 | 25,4522 | 3,18153 | 0,394797 | **0,859** | 1,78368 |
| (Errer de modèle) | | | | | | |
| Erreur pur | 2 | 16,1173 | 8,05863 | | | 2,83877 |
| (Erreur de réplication) | | | | | | |
| | | | | | | |
| N = 20 | $Q^2$ = | 0,849 | Cond.no. = | 4,6474 | | |
| DF = 10 | $R^2$ = | 0,950 | Y-miss = | 0 | | |
| | $R^2_{Adj.}$ = | 0,905 | RSD = | 2,0389 | | |

Le graphique présenté sur la figure IV.6 compare l'écart-type de la régression (modèle) à l'écart-type des résidus (bruit), pour un bon modèle, la premier barre (l'ecart type de la regression) est beaucoup plus grande que la troisiéme barre (l'ecart type des résidus), ce qui donne un niveau de confiance élevé. Le graphique d'analyse de variance fournit les mêmes informations que le $R^2$ ajusté.

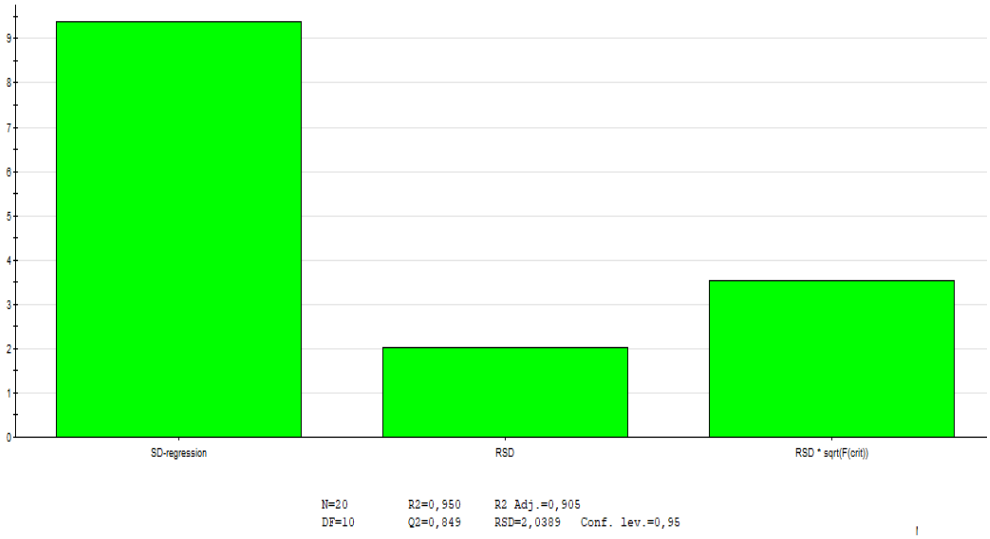



**Figure IV.6 :** Analyse de variance ANOVA pour l'indice de crémage

### IV.3.3. Equation du modèle

Le calcul des paramètres polynomiaux du modèle est effectué par la méthode de régression linéaire (MLR), l'équation du modèle obtenue est donnée par l'expression suivante :

$$y = 12.4625 + 3.106X_1 + 4.943X_2 - 4.715X_3 - 0.715X_1X_2 + 4.829X_1X_3 + 1.639X_2X_3 - 10.045X_1^2 - 0.427X_2^2 + 3.121X_3^2$$

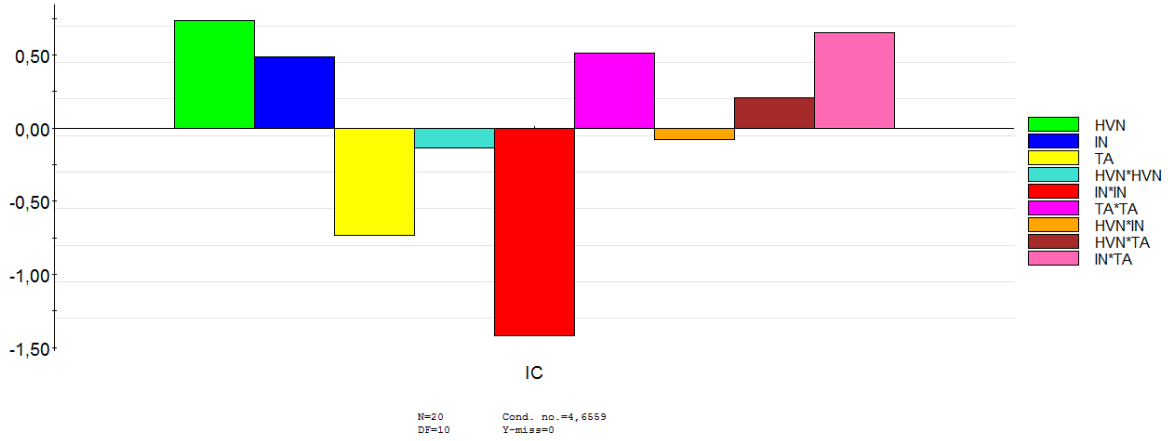



**Figure IV.7** : Effets des différents facteurs sur l'indice de crémage

Ce graphique (figure IV.7) nous permet de voir comment les facteurs affectent la réponse. À partir de cette figure, on constate que l'inuline ($X_1$) et l'huile végétale ($X_2$) possède un effet positifs sur l'indice de crémage tandis que le tensioactif possède un effet négatif. L'interaction entre les paramètres $X_1$, $X_2$ agit négativement sur l'indice de crémage tandis que l'interaction entre $X_2$, $X_3$ et $X_1$, $X_3$ influence positivement sur la réponse. De plus, l'effet quadratique de $X_1$ est nettement supérieur à celui de $X_2$ et de $X_3$.

D'après les graphiques de la figure IV.8, on peut voir que l'indice de crémage diminue à mesure que la quantité de tensioactif augmente et que la quantité d'huile végétale et d'inuline diminue.

Les diagrammes présentés sur la figure IV.9 représentent l'influence des effets d'interaction des trois facteurs sur la réponse Y. A partir de ces courbes, on constate qu'il existe une relation inversement proportionnelle entre l'indice de crémage et la quantité de Tween 80 ($X_3$) et une relation proportionnelle entre le volume de l'huile végétale ($X_2$) et l'indice de crémage (Y). Cependant, l'inuline ($X_1$) est toujours influencée par la présence des autres facteurs ($X_2$ et $X_3$).

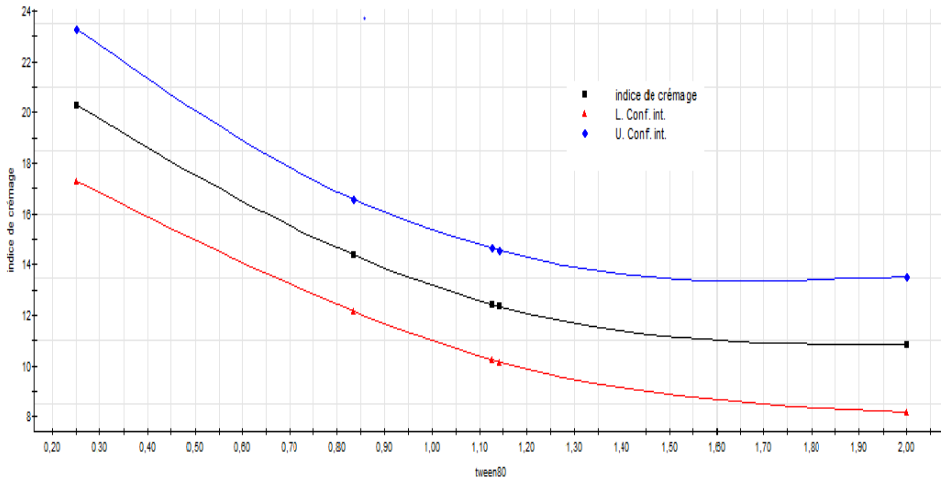



**Figure IV.8 :** Influence de tween 80 sur l'indice de crémage

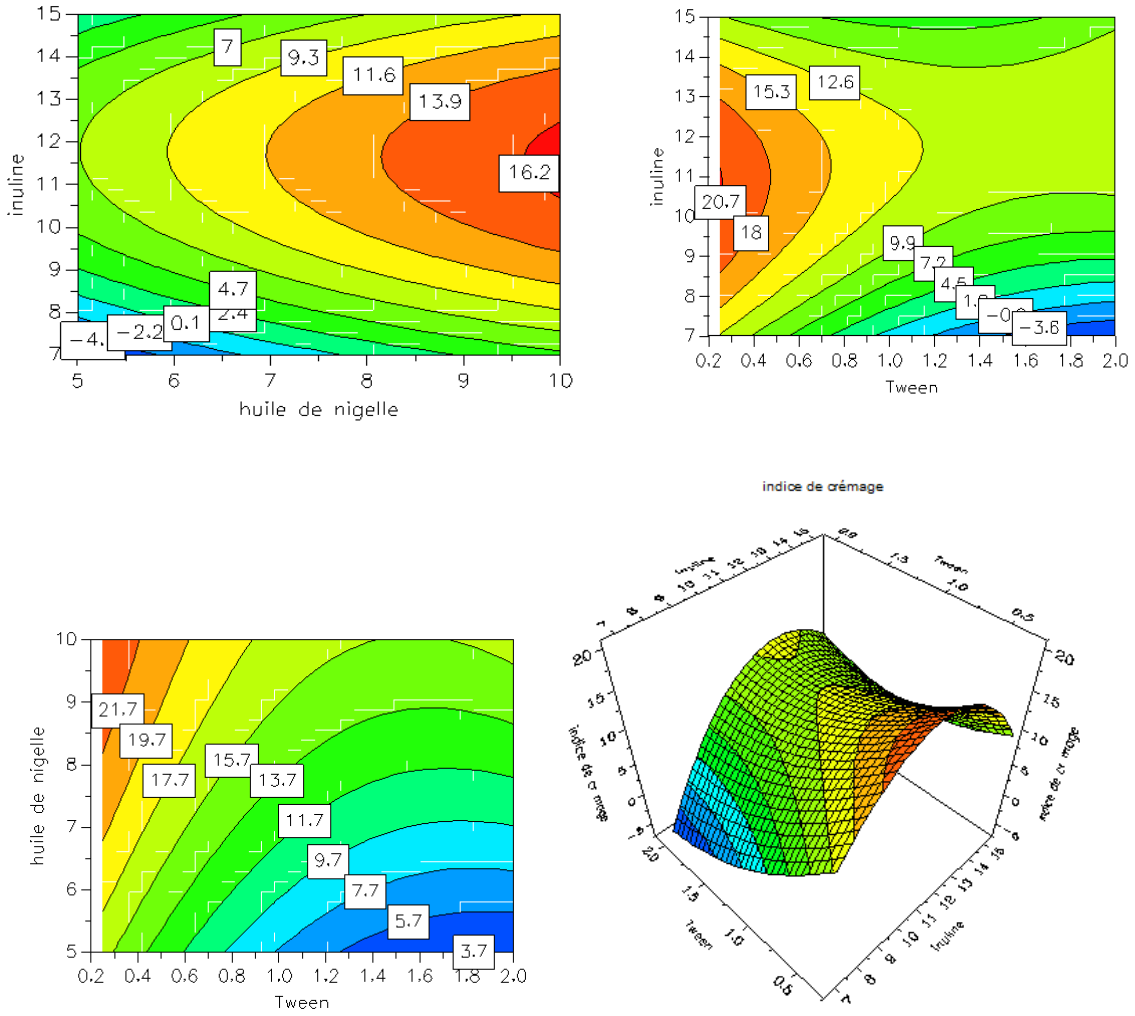



**Figure IV.9 :** Courbes de surface représentant l'effet des différents facteurs sur l'indice de crémage

## IV.4. Caractérisation de la formule optimale

L'objectif d'une formule optimale est d'obtenir une émulsion gélifiée stable c'est-à-dire sont indice de crémage est égale à zéro. D'après le plan d'expérience D-optimal, la formule optimale qui en résulte est constituée de 7,0531% d'inuline, 6,2796% de l'huile de nigelle et 0,8836% Tween 80.

### IV.4.1. Etude viscosimétrique

La viscosité d'inuline et de la formulation optimale ont été mesurée en fonction de la vitesse de rotation. Les graphes (figure IV.10 et IV.11) montrent que la viscosité apparente diminue en fonction de la vitesse de rotation. De plus, la dispersion de l'inuline seule présente une viscosité apparente supérieure à celle de l'émulsion.

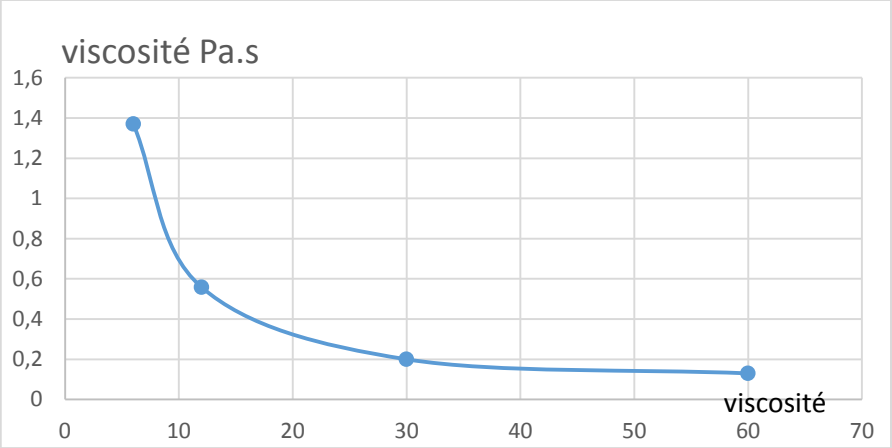



**Figure IV.10 :** Viscosité de l'inuline en fonction de la vitesse de rotation

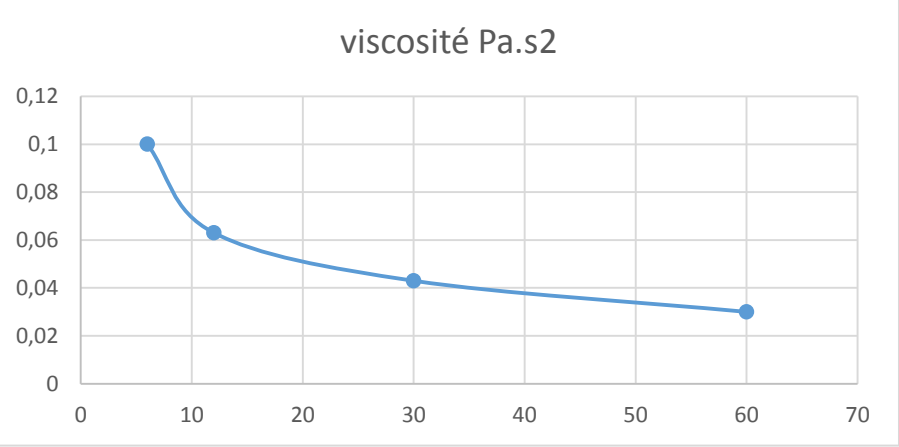



**Figure IV.11** : Viscosité de la formule optimale en fonction de la vitesse de rotation

### IV.4.2. Examen microscopique

L'examen microscopique, de la dispersion de l'inuline seule et en émulsion formulée est réalisé en utilisant un microscope optique avec un agrandissement de 10. Les résultats obtenus sont indiqués sur les figures IV. 12 et IV.13

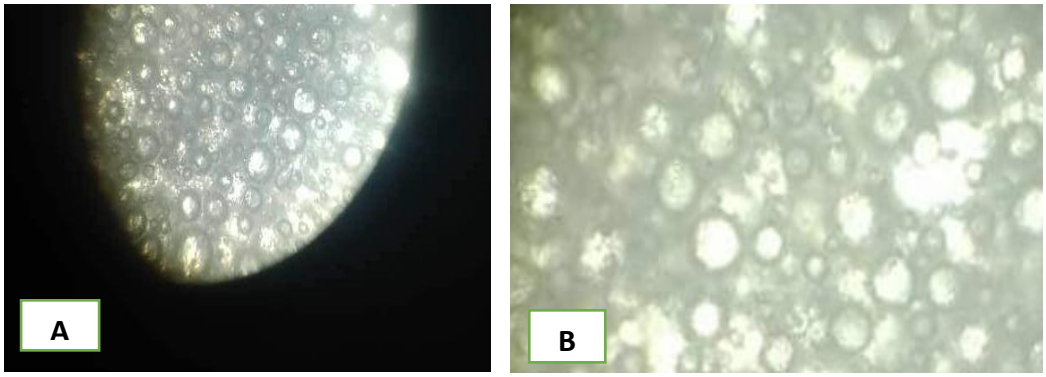



**Figure IV.12 :** Vue microscopique : (A) : de l'inuline en solution, (B) : émulsion optimale

D'après la figure IV.12 , l'inuline en suspension donne le même aspect qu'une émulsion H/E (dispersion de goutellettes d'huile dans l'eau).

### IV.4.3. Stabilité au cours du stockage

Afin d'étudier la stabilité de l'émulgel formulé au cours du temps, trois 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, et le dernier à 40°C. Ces tubes ont été conservés pendant 1 mois, et ils ont présentés une stabilité physique sans séparation de phase, avec l'absence de formation visuelle de colonies des bactéries ou des champignons (figure IV.13).

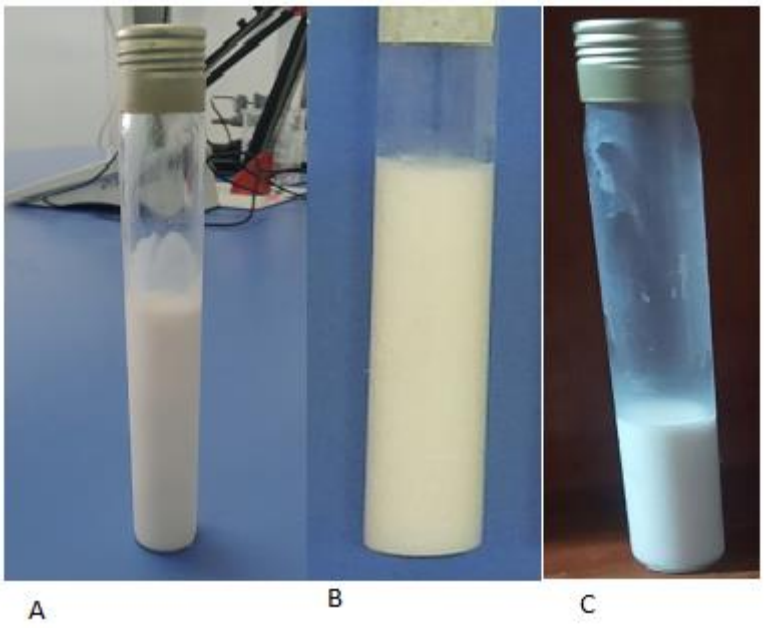



**Figure IV.14 :** Formulation optimale après 1 mois (**A**) : à température (40°C), (B) : à température (4°C), C à température ambiante

# *Conclusion générale*

# Conclusion générale

Ce travail a fait l'objet de la formulation d'une émulsion gélifiée stable à base de l'inuline en utilisant un plan d'expérience afin de déterminer l'influence des différents facteurs (à savoir la quantité de l'huile végétale de nigelle, l'inuline et le tween 80) et leurs interactions sur la réponse (l'indice de crémage).

La partie expérimentale est divisée en deux parties, lors de la 1ère partie, on a déterminé l'activité anti-oxydante de l'huile végétale de nigelle qui est égale à 0.7µL/mL et elle est 10 fois inférieure à celle de l'acide férulique.

La deuxième partie a pour objectif la formulation de l'émulsion gélifiée stable en utilisant un plan d'expérience D-optimal, D'après les résultats trouvés nous pouvons conclure que :

- Les formulations (E3, E4, E7, E8, E11, E18) sont stables tandis que le reste des formulations sont instables.
- 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 0.95 pour l'indice de crémage
- La formule optimale obtenue est constituée de 7,0531% d'inuline, 6,2796% de l'huile de nigelle et 0,8836% Tween 80
- Un test de stabilité pendant le stockage a révélé une stabilité d'émulsion gélifiée qui dure plus de 30 jours à trois températures différentes (4°C, température ambiante et 40°C).

Enfin comme perspectives, nous proposons de suivre ce travail en :

- ✓ étudiant l'effet antibactérien de la formule optimale
- ✓ déterminer la taille des gouttelettes d'huile dans l'émulsion
- ✓ étude de la stabilité au cours du stockage à des longues périodes
- ✓ voir s'il existe une diminution de l'effet antibactérien de l'huile végétale de nigelle contenue dans l'émulsion après son stockage

# Références bibliographiques

[1] Novales, B., Papineau, P., Sire, A., Axelos, M., " Caractérisation d'émulsions et de suspensions par analyse d'imagerie à l'Inra", pages 45-50

[2] Doumeix, O., "Opérations unitaires en génie biologique". Tome 1, les émulsions, France (2011) : sceren- CNDP- RDP, page 10

[3] Pal, R., "Rheology of simple and multiple emulsions", curr opin colloid interface sci, feb, 16(1), p41-60.

[4] Tatar, B. C., Sumnu, G., Sahin, S., "Rheology of emulsions, advances in food rheology and its applications" chapter17, p437-457 (2017).

[5] Babak, V. G., Stébé, M. J., "highly concentrated emulsions: physicochemical principles of formulation", Journal of dispersion science and technology (2002), vol 23,n° 1-3, Doi 10.1080/01932690208984184.

[6] Ali, A., «Nanoémulsions d'intérêt pharmaceutique stabilisées par la β-lactoglobuline», Thèse de doctorat, (2016) université de Paris-saclay.

[7] Lee, K. L., "Applications and use of micriémulsions", Department of chemical engineering and chemical technology, imperial college London, November (2010), page 1-6.

[8] Carrier, O., «De la formation de gouttelettes à l'émulsification: approche expérimentale à microéchelle», Thèse de doctorat, (2012), université de Lorraine.

[9] Becher, P., "Particle science, emulsion stability and testing", Technical brief, volume 2, (2011).

[10] Gahanassi, F. Z., "Stabilité des émulsions", université d'Alger, faculté de médecine Alger (1994).

[11] Aserin, A., "Multiple emulsions: technology and applications", wiley-interscience, 3/05/2013

[12] Kassa, D., «Etude d'une émulsion a visée anti inflammatoire destinée à la voie orale», Thèse de doctorat : pharmacie : université d'Alger, (1991).

[13] Rojas, M., «Emulsification en cuve agitée : Rôle du protocole opératoire sur l'inversion de phase catastrophique», thèse de doctorat : Génie de procédés et de l'environnement (2007), école doctorale à Toulouse.

[14] Rondon, V. C., «Etude des mécanismes de libération d'actifs nanodisperses : application au traitement de puits», thèse de doctorat, (2010) spécialité chimie physique, Université de Bordeaux I.

[15] Koroleva, M., Tokarev, A., Yurtov, E., "Simulation of floculation in W/O emulsions and experimental study", journal of colloids and surfaces, physicochemical engineering Aspects, volume 481, (2015), Pages 237-243.

[16] Petsev, D. N., "Emulsion: structure, stability and interaction, interface science and technology, volume 4", chap 9, p 353-354

[17] Pierat, N., «Préparations d'émulsions par inversion de phase induite par agitation» Thèse de doctorat (2010), faculté de pharmacie, Université HENRI-POINCARE, Nancy I, France, page 24.

[18] Galindo, J. M., Alvarez., «Etude de l'inversion de phase catastrophique lors de l'émulséfication de produits visqueux», thèse de doctorat, (2008), spécialité génie chimique, institut national polytechnique de Lorraine.

[19] Collet, E., "Progrès en dermato-allergologie", France: John libbey Eurotext, p65

[20] Rosen, M., "Surfactants, and interfacial phenomena", J. Wiley (2004).

[21] Brochette, P., "Emulsification : élaboration et étude des émulsions", technique de l'ingénieur, traité génie des procédés, J2150 :1-18 ,(1999).

[22] Tadros, T. F., "Applied surfactants, principles and application", Wiley-VCH(2005).

[23] Ruff, Y, «biopolymères dynamiques : oligo-et polysaccharide», thèse du doctorat, 2008, université lois Pasteur.

[24] Rudy, C., «Synthèse de polysaccharides amphiphiles à partir de dextrine et application à la stabilisation d'émulsions directes et inverse» thèse du doctorat, 2001, génie des procédés et produit, Ecole Nationale Supérieure des Industries Chimiques.

[25] Apolinário, A.C., Goulart de Lima Damasceno, B. P., de Macêdo Beltrão, N.E., Pessoa, A., Converti, A., da Silva, J.A., "Inulin-type fructans: A review on

different aspect of biochemical and pharmaceutical technology", Carbohydrate polymers 2014 (101), P 369

[26] Chi, Z.M., Zhang, T., Cao, T.S., Liu, X.Y., Cui, W., Zhao, C.H., "Biotechnological potential of inulin for bioprocesses", Journal of Bioresource Technology 2011 (102) 4295–4296

[27] Carabin., I. G., Gary Flamm, W., " Evaluation of Safety of Inulin and Oligofructose as Dietary Fiber" journal of Regulatory Toxicology and Pharmacology 1999 (30), 268–282

[28] Shoaib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., Shakeel, A., Ansari, A., Niazi, S., "Inulin: Properties, health benefits and food applications" Carbohydrate Polymers, 2016 (147) 444-454.

[29] Meier, H., Reid, J. S. G., "Reserve polysaccharides other than starch in higher plants", Encyclopedia of Plant Physiology, (1982), New series, vol. 13 A, pp. 418-471

[30] French, A. D., "Accessible conformations of the B-d-(2–1)-and-(2–6)-linked d-fructans inulin and levan", Journal of Carbohydrate Research, 1988 (176), 17–29.

[31] Vereyken, I. J., Chupin, V., Islamov, A., Kuklin, A., Hincha, D. K., & de Kruijff, B., "The effect of fructan on the phospholipid organization in the dry state". Biophysical Journal, 2003 (85) 3058–3065.

[32] Oka, M., Ota, N., & Mino, Y., "Studies on the conformational aspects of inulin oligomers", Chemical Pharmaceutical Bulletin, 1992 (40) 1203–1207.

[33] Liu, J., Waterhouse, A. L., & Chatterton, N. J., "Do inulin oligomers adopt a regular helical form in solution" Journal of Carbohydrate Chemistry, 1994 (13) 859–872.

[34] Timmermans, J. W., van Leeuwen, M. B., Tournois, H., de Wit, D., Vliegenthart, J., F. G.," Quantitative analysis of the molecular weight distribution of inulin by means of anion exchange HPLC with pulsed amperometric detection", Journal of Carbohydrate Chemistry, 1994 (13) 881–888.

[35] Mensink, M. A., Frijilink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W. L. J., "Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics" journal of Carbohydrate Polymers 130 (2015) 405–419

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

[37] Hinrichs, W. L., Prinsen, M. G., & Frijlink, H. W. "Inulin glasses for the stabilization of therapeutic proteins". International Journal of Pharmaceutics, 2001 (215), 163–174.

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

[39] Ronkart, S. N., Paquot, M., Blecker, C. S., Fougnies, C., Doran, L., Lambrechts, J. C., Norberg, B., Deroanne, C., "Impact of the crystallinity on the physical properties of inulin during water sorption", journal of Food Biophysics, 2008 (4), 49–58.

[40] Flory, P., Vrij, A., "Melting points of linear-chain homologs. The normal paraffin hydrocarbons". Journal of the American Chemical Society, 1963 (85), 3548–3553.

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

[42] Warnot, F., «Recherche de marqueurs glucidiques et proteiques lies au stade de maturite de la racine de chicorée industrielle», thèse de doctorat, (1997), L'université des sciences et technologies de LILLE.

[43] Kawamura, M., Uchiyama, T., "Formation of a cycloinulo-oligosaccharide from inulin by an extracellular enzyme of *Bacillus circulans",* (1989) Okumz 31 B. Carbohydr. Res., 192: 83-90

[44] Eigner, W.D., Abuja, P., "Physicochemical characterization of inulin and sinistrin", Carbohydr. Res., 180: 87-95.

[45] Fuchus, A., "Production and utilization of inulin", Part Il, pp. 319-352 (1993).

[46] Fuchs, A., "Potentials for non-food utilization of fructose and inulin", Starch/Starke, (1987) 39: 335-343.

[47] Anonyme, "L'oligofructose : plaisir santé". (1992) Revue Laitière Française, 518: 82

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

[49] Khoudali, S., Benmessaoud left, D. Essaqui, A. Zertoubi, M. Azzi, M. Benaissa, M. "Étude de l'activité antioxydante et de l'action anti corrosion de l'extrait méthanolique des feuilles du palmier nain (Chamaerops humilis L.) du Maroc", J. Mater. Environ. Sci. 5 (3) (2014) 887-898

[50] Molyneux, P. "The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity", Songklanakarin J. Sci. Technol. Vol. 26 No. 2 Mar.-Apr. 2004

[51] Zarrour, B. «Etude phytochimique de quelques extraits obtenus de le plante Matricaria pubescens (Astéracéas) et Evaluation de leur activité antioxydante», Mémoire de Master en:Chimie Appliquée: Universite kasdi merbah ouargla ,(2012).

[52] Liu, J., Lu, J-f., Kan, J., Jin, C-H., "Synthesis of chitosan-gallic acid conjugate: Structure characterization and in vitro anti-diabetic potential", International Journal of Biological Macromolecules Volume 62, November 2013, Pages 321-329.

[53] Linder, R., "Les plans d'expériences un outil indispensable à l'expérimentateur", Presses de l'école nationale des ponts et chaussées, 2005. Paris.

[54] Goupy, J. L., "Étude comparative de divers plans d'expériences", Revue de statistique appliquée, tome 38, no 4 (1990).

[55] Paradiso, V. M., Giarnetti, M., Summo, C., Pasqualone, A., Caponio, F., Minervini, F, "Production and characterization of emulsion filled gels based on inulin and extra virgin olive oil", journal of Food Hydrocolloids 45 (2015) 30-40

[56] Mcclements, D.J., "Critical Review of Techniques and Methodologies for Characterization of Emulsion Stability", journal of Critical Reviews in Food Science and Nutrition, (2007)